



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO  
INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD  
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS Y DE LA SALUD

**TESIS**

**EVALUACIÓN DE PROPIEDADES SELECTAS DE  
MATERIALES UTILIZADOS COMO RECUBRIMIENTOS  
PULPARES EN ODONTOLOGÍA**

Para obtener el título de  
**Maestra en Ciencias Biomédicas y de la Salud**

**PRESENTA**

Norma Angelica Milanés Baños

**Director (a)**

Dr. Carlos Enrique Cuevas Suárez

**Codirector (a)**

Dr. Juan Eliezer Zamarripa Calderón

**Comité tutorial**

Dr. José Alejandro Rivera Gonzaga

Dr. Ana Josefina Monjarás Ávila

Dr. Guillermo Grazioli

Pachuca de Soto, Hidalgo, agosto, 2024

**Mtra. Ojuky del Rocío Islas Maldonado**  
**Directora de Administración Escolar**  
**Presente.**

El Comité Tutorial de la **TESIS** del programa educativo de posgrado titulada **“Evaluación de propiedades selectas de materiales utilizados como recubrimientos pulpares en odontología”**, realizado por la sustentante **Norma Angélica Milanés Baños** con número de cuenta 091956 perteneciente al programa de **Maestría en Ciencias Biomédicas y de la Salud**, una vez que ha revisado, analizado y evaluado el documento recepcional de acuerdo a lo estipulado en el Artículo 110 del Reglamento de Estudios de Posgrado, tiene a bien extender la presente:

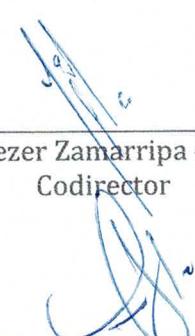
**AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN**

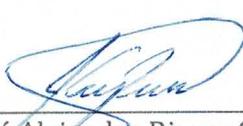
Por lo que la sustentante deberá cumplir los requisitos del Reglamento de Estudios de Posgrado y con lo establecido en el proceso de grado vigente.

**Atentamente**  
**“Amor, Orden y Progreso”**  
**Pachuca, Hidalgo a 14 de agosto de 2024**

El Comité Tutorial

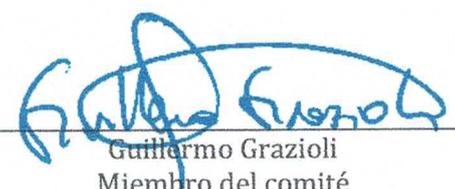
  
 Carlos Enrique Cuevas Suárez  
 Director

  
 Juan Eliezer Zamarripa Calderón  
 Codirector

  
 José Alejandro Rivera Gonzaga  
 Miembro del comité

ÁREA ACADÉMICA DE MEDICINA

Ana Josefina Monjarás Ávila  
 Miembro del comité

  
 Guillermo Grazioli  
 Miembro del comité

Circuito ex-Hacienda La Concepción s/n  
 Carretera Pachuca Actopan, San Agustín  
 Tlaxiaca, Hidalgo, México. C.P. 42160  
 Teléfono: 52 (771) 71 720 00 Ext. 41557 y  
 41556  
 medicina@uaeh.edu.mx

Durante el desarrollo de estos estudios, se contó con una beca de manutención otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), número de beca 827164 y número de CVU 673129.

Durante el periodo del 05 al 30 de junio del 2023 se realizó una estancia nacional de investigación en el laboratorio de materiales y biomateriales dentales de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Durante el periodo del 16 al 30 de noviembre del 2023 se realizó una estancia nacional de investigación laboratorio de nanoestructuras y biomateriales dentales de la Escuela Nacional de Estudios Superiores, Unidad León, Guanajuato.

Proyecto sometido a la aprobación del Comité de Ética e Investigación de Instituto de Ciencias de la Salud con dictamen aprobado el día 07 de marzo del 2024, con oficio ICSa 160/2023.

## **Agradecimientos Institucionales**

Al Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías CONAHCYT por su apoyo y generosidad para sostener puntualmente con una beca de manutención durante estos dos años de maestría.

Al laboratorio de materiales y biomateriales dentales de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, en especial a la Dra. Abigail Flores Ledezma por su apoyo y guía en la realización de pruebas de resistencia compresiva y bio-mineralización *in vitro*, durante el periodo comprendido del 05 al 30 de junio del 2023.

Al laboratorio de nanoestructuras y biomateriales dentales de la Escuela Nacional de Estudios Superiores, Unidad León, al Dr. Rene García Contreras por su apoyo y capacitación para la realización de las pruebas de viabilidad celular, al C.D. Benjamín Aranda Herrera por su apoyo en la estandarización de las pruebas de viabilidad celular, durante el periodo comprendido del 16 al 30 de noviembre del 2024.

Especial reconocimiento merece el Dr. Carlos Enrique Cuevas Suarez mi tutor, por su apoyo incondicional y leal en cada etapa de este proyecto, por su paciencia ayudándome en cada momento desinteresadamente, por su aportación de ideas, apoyo en el análisis de datos, y animándome en toda esta etapa, Gracias por compartir su conocimiento y guía en mis estudios de Maestría y en el presente trabajo.

Estoy muy agradecida con mi cuerpo tutorial por el apoyo en el aporte de ideas, revisiones, compartiéndome de su experiencia para la realización de esta tesis.

Me gustaría agradecer a la Dra. Jeannette Alejandra Izquierdo Vega, investigadora del Área Académica de Medicina del Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, por su capacitación y apoyo en la realización de la sustancia buffer para la realización de la prueba de bio-mineralización *in vitro*, gracias por cada consejo y palabra de ánimo en cada momento de desesperación.

## **Agradecimientos Personales**

Primeramente, doy gracias a Dios el creador y sustentador de mi vida, ya que El permite que yo pueda vivir.

Quiero agradecer a mi Papacito Gonzalo, gracias por que tú trabajo conmigo a pesar de mi edad has sido imparabile, me alientas, me exhortas, me abrazas cuando el desánimo me ataca y siento que ya no puedo más, te amo papacito.

Gracias a mis hermanos Lupita, Martin y Alondra que, aunque no es mi hermana de sangre, siempre me escuchan y soportan en mis momentos más locos, mis compañeros de vida, mis mejores amigos, los amo.

Gracias a mi amorxi Cirí, por apoyarme siempre, por cada ausencia para ir a hacer experimentos y estar fuera de casa por meses, gracias por todo el dinero, tiempo y esfuerzo invertido, por escucharme aun de madrugada, quejándome por no poder más, te amo vida y agradezco estes en mi vida.

Gracias a mis sobrinos hermosos Emmanuel, Jimena, Normita y mi pequeña Dany, gracias por amarme y distraerme con sus abrazos cuando el desánimo era más fuerte, los amo mucho.

Y por último, pero no menos importante a ti mi Angie, mi pequeña guerrera, la que desde que llego a mi vida me alienta y reta a superarme por ella, te amo mi princesa, gracias por ser mi motor y fuerza para continuar.

*“La edad es solo un número, nunca es tarde para seguir soñando y alcanzar nuevas metas.”*

## **INDICE GENERAL**

INDICE GENERAL.....	6
INDICE DE FIGURAS.....	6
Figura 1 Diagrama de diseño experimental.....	6
Figura 2 Diagrama de Viabilidad Celular .....	6
Figura 3 Resultados de resistencia compresiva.....	6
Figura 4 Resultados de resistencia de unión a materiales resinosos.....	6
INDICE DE TABLAS.....	6
Tabla de variables.....	6
ABREVIATURAS .....	6
RESUMEN.....	7
ABSTRACT .....	8
I INTRODUCCIÓN .....	9
II ANTECEDENTES.....	10
2. Generalidades.....	10
2.1 Situaciones clínicas para el uso de recubrimientos pulpares directos.....	10
2.1.1 Caries .....	10
2.1.2 Traumatismos .....	11
2.1.3. Malformaciones genéticas .....	12
2.2 Materiales utilizados como recubrimientos pulpares directos.....	12
2.2.1 Cemento de Silicato Cálcico .....	12
2.2.2 Propiedades fisicoquímicas y mecánicas de materiales dentales utilizados como recubrimientos pulpares directos .....	15
2.2.3 Biocompatibilidad de los recubrimientos pulpares directos .....	15
3.-Antecedentes del problema.....	16
2.3 Planteamiento del problema.....	18
III JUSTIFICACIÓN .....	19
IV HIPÓTESIS .....	20
V OBJETIVOS .....	20
5.1. Objetivo General.....	20
5.2. Objetivos Específicos .....	20
VI MATERIALES Y METODOS.....	21
6.1 Contexto de la investigación .....	21

Tipo y diseño de estudio.....	21
6.2 Selección de la población, criterios de inclusión y exclusión .....	21
6.3 Tamaño de muestra y muestreo .....	22
6.4 Diagrama de diseño experimental .....	24
6.5 Definición de variables (dependientes, independientes) .....	25
Prueba (principio y procedimiento) .....	27
VII RESULTADOS.....	35
7.1 Resistencia compresiva .....	35
7.2 Resistencia de unión a materiales resinosos.....	36
7.3 Radiopacidad .....	37
7.4 Bio-mineralización in vitro.....	38
7.5. Viabilidad Celular.....	42
VIII DISCUSION .....	44
IX CONCLUSIONES.....	48
X RECOMENDACIONES .....	49
XI REFERENCIAS .....	50
XII ANEXOS.....	56
12.1 Formato de aceptación por el comité de Ética e Investigación de ICsA. ....	56
12.2 Constancia de participación congreso UNAM.....	57
12.3 Constancia de asistencia a congreso de Nanomateriales .....	59
12.4 Estancia de investigación en Puebla.....	61
12.5 Estancia de investigación en León Guanajuato.....	62
12.6 Simulated body fluid (fluido corporal simulado).....	63
12.7 Preparación PBS 500 ml.....	65
12.8 Preparación de MTT (Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio) ..	66

## **INDICE GENERAL**

### **INDICE DE FIGURAS**

Figura 1 Diagrama de diseño experimental

Figura 2 Diagrama de Viabilidad Celular

Figura 3 Resultados de resistencia compresiva

Figura 4 Resultados de resistencia de unión a materiales resinosos

### **INDICE DE TABLAS**

Tabla de variables

### **ABREVIATURAS**

ADN: Ácido desoxirribonucleico

MTA: Mineral trióxido agregado

MPa: Mega pascal

Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: Oxido de bismuto

FCS: Fluido corporal simulado

MTT: Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio

np: Nanopartículas

PBS: Buffer fosfato salino

MEM: Medio esencial mínimo

hDPSC: Células madre de pulpa dental humana

rpm: Revoluciones por minuto

µL: Microlitro

SHED: Células madre de dientes deciduos exfoliados humanos (células mesenquimales)

## RESUMEN

Un recubrimiento directo es la colocación de un material sobre la pulpa dañada como un intento para conservar su vitalidad. Actualmente hay varios materiales usados con este fin como MTA, TheraCal LC, Biodentine, y TheraCal PT. Algunos de estos materiales están siendo utilizados clínicamente sin contar con estudios suficientes que avalen su efectividad y toxicidad, por lo que es necesario analizar propiedades que nos permita conocer su comportamiento y así poder emitir recomendaciones. El objetivo de esta investigación fue evaluar diferentes propiedades de materiales bioactivos utilizados como recubrimientos pulpares directos. Los materiales evaluados fueron Biodentine® (Septodont), MTA (Viarden), TheraCal LC (Bisco) y TheraCal PT (Bisco). Se caracterizó su resistencia compresiva con ensayo de compresión, resistencia de unión a material resinosos por cizallamiento, radiopacidad por método de radiación, bio-mineralización *in-vitro* con microscopio electrónico de barrido, y viabilidad celular con método MTT, se analizaron los datos en el software Jamovi realizándose anovas. Con relación a la resistencia compresiva fue mayor para Theracal PT ( $p < 0.001$ ), la resistencia de unión a materiales resinosos fue mayor para Theracal PT y Theracal LC ( $p < 0.001$ ), Así MTA mostro los valores más elevados en radiopacidad ( $p < 0.001$ ). Biodentine es consiguió la formación de hidroxiapatita en su superficie, Finalmente, MTA fue el material con menor citotoxicidad ( $p < 0.001$ ). Las características evaluadas variaron entre los diferentes biocerámicos analizados, debido a su composición química, se concluye que los materiales biocerámicos de base polimérica tienen una mayor resistencia de unión a materiales resinosos, sin embargo, estos materiales no permiten la formación de hidroxiapatita en su superficie.

### Palabras claves

Recubrimiento pulpar, bioactivos, viabilidad celular, bio-mineralización, resistencia compresiva, resistencia de unión a materiales resinosos, radiopacidad.

## ABSTRACT

A direct coating is the placement of a material over the damaged pulp in an attempt to preserve its vitality. There are currently several materials used for this purpose such as MTA, TheraCal LC, Biodentine and TheraCal PT. Some of these materials are being used clinically without sufficient studies to support their effectiveness and toxicity, so it is necessary to analyze properties that allow us to know their behavior and thus be able to issue recommendations. The objective of this research was to evaluate different properties of bioactive materials used as direct pulp coatings. The materials evaluated were Biodentine® (Septodont), MTA (Viarden), TheraCal LC (Bisco) and TheraCal PT (Bisco). Its compressive strength was characterized with a compression test, resistance to bonding to resinous materials by shear, radiopacity by radiation method, in-vitro biomineralization with a scanning electron microscope, and cell viability with the MTT method. The data were analyzed in the Jamovi software. anovas being performed. In relation to the compressive strength, it was higher for Theracal PT ( $p < 0.001$ ), the bonding resistance to resinous materials was higher for Theracal PT and Theracal LC ( $p < 0.001$ ), thus MTA showed the highest values in radiopacity ( $p < 0.001$ ). Biodentine achieved the formation of hydroxyapatite on its surface. Finally, MTA was the material with the lowest cytotoxicity ( $p < 0.001$ ). The characteristics evaluated varied between the different bioceramics analyzed, due to their chemical composition, it is concluded that polymer-based bioceramic materials have a greater bonding resistance to resinous materials, however, these materials do not allow the formation of hydroxyapatite on their surface.

## Keywords

Pulp capping, bioactives, cell viability, bio-mineralization, compressive strength, bonding resistance to resinous materials, radiopacity.

## I INTRODUCCIÓN

La caries afecta a la población adulta, mayor de 20 años en un 93.3%.<sup>(1)</sup> La caries no tratada puede ocasionar una infección o necrosis de la pulpa, por años el tratamiento fue la eliminación completa no selectiva de la dentina cariada, en los últimos años se ha propuesto el tratamiento conservador de la pulpa; con su eliminación parcial así como técnicas de recubrimiento pulpar directo que reparan el complejo dentino-pulpar, por la liberación de calcio, fosfatos, y fluoruro, estos reaccionan químicamente con los tejidos del diente, formando un enlace con la pulpa, se degradan paulatinamente y son reemplazados por el complejo dentino-pulpar.<sup>(2)</sup>

Desde 1976, se han fabricado y estudiado materiales cuya base es el silicato de calcio, que es un material que se utiliza sobre la pulpa expuesta, intentando potenciar la vitalidad de los dientes para este fin. Son los estudios experimentales *in vitro* los que nos permiten identificar las propiedades físicas, mecánicas y biológicas que nos ayudan a predecir el comportamiento clínico a largo plazo de estos materiales. En este estudio se evaluaron diferentes propiedades como la resistencia compresiva, la resistencia de unión a materiales resinosos, la radiopacidad, la bio-mineralización *in vitro*, y finalmente la viabilidad celular, los materiales evaluados fueron Biodentine® (Septodont), MTA (Viarden), TheraCal LC (Bisco) y TheraCal PT (Bisco).<sup>(3-7)</sup>

En la primera sección de este documento se describen las generalidades y usos de los diferentes materiales actualmente utilizados como recubrimientos pulpares directos.

En una segunda sección se describe la metodología utilizada en este proyecto, y se muestran los resultados de cada prueba realizada previamente descrita, y el análisis estadístico de cada variable estudiada.

En una sección de discusión se muestran los resultados y detalla el contraste con la información científica publicada a la fecha, en esta sección también se incluye la conclusión y la bibliografía actualizada.

## II ANTECEDENTES

### 2. Generalidades

La pulpa dental del diente es tejido conectivo laxo, desarrollado a partir de la papila dental, se encuentra en la cámara y conductos radiculares, contenido en las paredes de dentina.(8)

Los recubrimientos pulpaes se utilizan cuando la pulpa vital asintomática está expuesta debido a factores como lesiones de caries extensas, iatrogenias y traumatismos, en donde se debe aplicar un biomaterial sobre la pulpa expuesta y después se coloca un material de restauración permanente.

Existen tres tipos de dentina, la dentina primaria es tubular creada por la secreción activa de odontoblastos primarios en la formación de la corona, la secundaria también llamada fisiológica se deposita después de la erupción dental, y la terciaria que se forma en caso de una lesión, es una dentina reactiva sintetizada por odontoblastos, que se debe a la respuesta de estímulos leves, si los estímulos son muy fuertes pueden conducir a la muerte o necrosis de la pulpa.(9)

En el mundo hay 2300 millones de personas con caries en dientes permanentes,(10) si no se atiende a tiempo, provocara infecciones dentales y necrosis de la pulpa dental. Por años el tratamiento de elección para la restauración de estas lesiones de caries, fue la eliminación completa no selectiva de la dentina cariada(11)sin embargo, en la actualidad se ha hecho promoción al tratamiento conservador de la pulpa, con su eliminación parcial, así como técnicas de recubrimiento pulpar directo que reparan el complejo dentino-pulpar(12), por la liberación de calcio, fosfatos, y fluoruro, y la consecuente formación de un puente dentinario.(13,14)

#### 2.1 Situaciones clínicas para el uso de recubrimientos pulpaes directos

##### 2.1.1 Caries

La caries dental es una enfermedad inducida por las biopelículas (microorganismos que se adhieren a la estructura dental), con origen multifactorial, no transmisible, que se ve condicionada con la dieta, una alta ingesta de azúcares fermentables y ausencia de oxígeno, condiciones de las bacterias principalmente acidogénicas-

acidúricas como el *Streptococcus mutans* que son iniciadores de caries, bifidobacterias y lactobacilos que favorecen la progresión, y factores del huésped,(15,16) herencia genética, factores ambientales, hábitos con influencia parenteral, produce la pérdida de tejidos duros del diente, y es controlable si se detecta a tiempo.(17)

Se debe realizar una eliminación selectiva de las lesiones cariosas. Al inhibir el ataque de bacterias y reparar el daño, el complejo dentino-pulpar activa las moléculas de señalización y factores de crecimiento, se desencadena un aumento de odontoblastos quienes inician una reacción inflamatoria con la producción de quimiocinas y sintetizar una dentina terciaria reparadora gracias a las células madre dentro de la pulpa dental, los fibroblastos son los encargados de secretar moléculas solubles que producen una inflamación, regeneración y vascularización dentro de las paredes dentinarias.(16)

### 2.1.2 Traumatismos

Los traumatismos en la región dentoalveolar pueden ocasionar fracturas, desplazamientos de dientes, lesiones en los tejidos blandos como contusiones, abrasiones y laceraciones. Las fracturas coronarias con o sin exposición pulpar tienen el riesgo de terminar en necrosis pulpar e infección, se debe buscar siempre preservar la pulpa. En dientes inmaduros esto es muy importante ya que permitirá el desarrollo de la raíz y la formación del ápice. La pulpa de un diente permanente inmaduro tiene la capacidad de cicatrizar después de una exposición pulpar traumática, luxación o fractura radicular. Se pueden utilizar terapias pulpares conservadoras como el recubrimiento pulpar, pulpotomía parcial, pulpotomía cervical, estos procedimientos tienen la capacidad de re-vascularizar y revitalizar los dientes al crear condiciones que ayuden al crecimiento de tejido en los conductos radiculares de pulpas necróticas en dientes permanentes inmaduros. (18)

### 2.1.3. Malformaciones genéticas

Hipomineralización Incisivo-Molar. Es un defecto del esmalte dental de etiología desconocida, que llega a afectar a uno o más molares e incisivos permanentes, la prevalencia es de 2.8 al 40.2%. (19) Clínicamente se caracteriza por opacidades más o menos definidas, que varían en tamaño y pueden cambiar de color blanco a amarillo-marrón, este esmalte presenta una gran cantidad de proteínas, como albúmina sérica, colágeno tipo I. Se sugiere que la presencia de dichas proteínas inhibe el crecimiento de cristales de hidroxiapatita e impide la actividad enzimática de la amilasa salival y dextrinas, dando como resultado una pequeña cantidad de mineral del esmalte, lo que desencadena en la ruptura post-extracción e hipersensibilidad, haciendo el diente vulnerable a dolor y lesiones cariosas.(20)

## 2.2 Materiales utilizados como recubrimientos pulpaes directos

Un reto para la odontología restauradora moderna, es inducir la mineralización de la dentina hipomineralizada cariada, para proteger y preservar la pulpa vital, el tratamiento convencional para la pulpa expuesta a caries era la pulpotomía, esta técnica ha sido sustituida por recubrimiento pulpar, pulpotomía parcial. (13)

Estos cambios han sido favorecidos por el desarrollo de materiales dentales bioactivos, que inducen una unión mineral específica e intencional a la dentina; formando una capa superficial de un material similar a la hidroxiapatita en presencia de una solución de fosfato orgánico, es decir, se promueve la re-mineralización de la dentina.(4)

### 2.2.1 Cemento de Silicato Cálcico

En la década de 1990, se empezaron a desarrollar los materiales endodónticos reparadores tales como el agregado de trióxido mineral, conocido como MTA por sus siglas en inglés, compuesto por silicato y calcio. Tienen propiedades antimicrobianas, pH alcalino y bioactividad, también pueden liberar iones de hidroxilo y calcio en el tejido adyacente en donde se aplica, se utiliza en reparaciones de perforaciones accidentales o cariosas, reabsorciones radiculares

externas e internas, recubrimiento pulpar y retro-obturación en cirugía endodóntica. (5) Su capacidad antimicrobiana se debe al pH alcalino y la liberación de iones hidroxilo que dañan a los lípidos, las proteínas y el ácido desoxirribonucleico, las membranas celulares de los microorganismos, asimismo la presencia de calcio en su composición reduce la presencia de dióxido de carbono en los tejidos, que, junto con su pH alcalino, provocado por los iones hidroxilo favorecen la reparación tisular. (21)

La presencia de partículas pequeñas en el polvo del silicato cálcico de un diámetro menor a los túbulos dentinarios, tienen una mejor capacidad de sellado de la perforación, esto solo si se eliminó y desinfecto por completo la capa de barrido dentinario. Para potencializar el poder antimicrobiano se le adiciona al material una nano-hidroxiapatita capaz de provocar actividad antibacteriana en *Streptococcus* y *Enterococcus Faecalis*, como la clorhexidina que es efectiva contra bacterias gram negativas, positivas, y hongos. (21,22)

El MTA, es un cemento de silicato que calcio que ha sido muy utilizado desde su desarrollo en 1990, para el manejo de fracturas radiculares, sellado de perforaciones, recubrimiento pulpar, tapones apicales en apexificaciones, y como barrera coronal de re-vascularización, procedimientos que están en contacto con tejidos vivos y fluidos que favorecen las interacciones biológicas con el material. (23) Desde su desarrollo se ha ido modificando con sustancias que potencializan ciertos efectos, como el Neo MTA que se modificó para que en las pulpotomías no exista decoloración por la eliminación de óxido de bismuto, la sustancia radio pacificante se cambió por óxido de tantalio, que tiene mayor valor de radiopacidad ya que no causa efecto sobre la hidratación. (22)

El MTA compuesto por cemento Portland que debe su nombre debido a su semejanza en aspecto con las rocas que se encuentran en la isla de Pórtland. (óxido de calcio (44 %), óxido de silicio (14,5 %), óxido de aluminio (3,5 %), óxidos de hierro (3 %) óxido de magnesio (1,6 %)) y óxido de bismuto, inducen la dentinogénesis reparadora en pulpas expuestas mecánicamente, sus inconvenientes son: lo complicado de su manejo, el tiempo de fraguado muy prolongado además de que induce la decoloración de la corona. El polvo es una mezcla de cemento Portland

purificado, con oxido de bismuto. Las fases constitutivas del cemento son el silicato tricálcico, di cálcico y aluminato tricálcico. Otra variedad es el cemento ProRoot MTA, con más de 20 años en el mercado odontológico, tiene algunos inconvenientes como el largo tiempo de fraguado y alto costo, por lo que se desarrolló el MTA Angelus, con un tiempo de fraguado más reducido. Recientemente se incorporó al mercado el Retro MTA, con un tiempo de fraguado de 12 min, mucho más rápido que sus antecesores.(22) Este cemento ocasiona cambios en el ciclo celular, apoptosis y necrosis, a concentraciones del 20 y 40%, por lo que se sugiere utilizar con precaución.(24)

Biodentine fue creado en el 2009 está compuesto de polvo de silicato tricálcico, silicato di cálcico, carbonato cálcico y óxido de circonio como radio opacificador, en una cápsula de 0.7 grs; el líquido es cloruro de calcio como agente reductor de agua, y acelerador de fraguado, se mezclan los 0.7 g de polvo y cinco gotas de líquido, durante 30s a 4000-4200 revoluciones por minuto en un amalgamador. Cuando Biodentine es aplicado directamente sobre la pulpa, produce la formación de dentina reparadora que forma puentes de dentina, ausencia de una respuesta pulpar inflamatoria y capas de odontoblastos después de seis semanas.(4,12,25,26)

Theracal LC es un silicato tricálcico modificado con resina fotopolimerizable de pasta, se introdujo al mercado dental en el 2011, es un material híbrido, consta de cemento portland tipo III, resina, óxido de bismuto y sulfato de bario como radio opacificadores. No se necesita acondicionar la superficie de la dentina, se coloca en capas de 1 mm y curarlo durante 20 segundos. (4,27)

Theracal PT es un silicato de calcio que ha sido adicionado con resina dual, se usa en preparaciones de cavidades profundas, su fraguado dual se inicia con una lámpara de fotopolimerización, sus propiedades tixotrópicas facilitan su colocación. (28), este material tiene una más baja viabilidad celular en comparación con otros cementos de calcio.(29)

### 2.2.2 Propiedades fisicoquímicas y mecánicas de materiales dentales utilizados como recubrimientos pulpares directos

Resistencia compresiva: Es un indicador de la reacción de fraguado y la estabilidad de los materiales dentales. En los cementos como el MTA denota la reacción de hidratación, que se ve influenciada por el tipo de MTA, el líquido de la mezcla, la presión de condensación y la forma de mezclar el líquido con el polvo, diferentes formas de mezcla y vehículos pueden afectar la resistencia a la compresión de los materiales. (4,30)

El MTA es el material bioactivo más utilizado en recubrimientos pulpares directos, y diversos ensayos coinciden en que es un material altamente resistente, en comparación con cemento Portland puro, y algunos cementos de silicato de calcio. (31,32)

Resistencia de unión a materiales resinosos: Para que un material utilizado como recubrimiento pulpar tenga el éxito clínico esperado debe existir una buena adhesión a la superficie de la dentina para resistir las fuerzas de desalojo, actuando dentro de la cavidad oral. La fuerza es la resistencia a las fuerzas que deslizan el material más allá de la estructura del diente, una mayor resistencia adhesiva al cizallamiento denota una mejor unión del material al diente.(33)

La radiopacidad es la capacidad que tiene un determinado material de impedir el paso de rayos X a la película radiográfica, visualizándose en la radiografía como un área blanca. Influyen diferentes factores del material como la densidad, grosor, número atómico de los elementos que lo constituyen, también influye el voltaje del equipo radiográfico.(34)

### 2.2.3 Biocompatibilidad de los recubrimientos pulpares directos

Un material biocompatible es aquel que no altere la estructura pulpar dental y otros tejidos vivos, teniendo bajo impacto de toxicidad. En odontología se busca la aplicación de materiales dentales no tóxicos o muy poco tóxicos en uso a largo alcance para optimizar la salud y bioseguridad del paciente y del personal de la salud. (35)

La biocompatibilidad del MTA se debe al ion calcio dominante liberado que reacciona con los fosfatos en el fluido tisular e induce la formación de hidroxiapatita, el Biodentine tiene una mejor respuesta inflamatoria y diferenciación Odontoblástica y tiene mayor potencial de inducción a la re mineralización. (4,36,37)

La viabilidad celular hace referencia a la cantidad de células sanas en una población, en un estudio del cemento de silicato di cálcico, indica la viabilidad de las células de fibroblasto. Las pruebas en suspensión (seguimiento cuantitativo de los cambios en el número viable de células bacterianas) indicaron una fuerte actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.(38)

El desarrollo de terapias biológicas mínimamente invasivas dirigidas a la preservación de la vitalidad pulpar sigue siendo el tema clave dentro de la endodoncia clínica contemporánea(3)

La bio-mineralización es la elaboración de una matriz orgánica seguida de una nucleación heterogénea inotrópica de sales de calcio y fosfatos, que ha mostrado la bioactividad de los revestimientos mediante la formación y el crecimiento de hidroxiapatita, que es un composite de hidroxiapatita porosa, cristalina, bio-compatible, suave, sustituido con carbonato, conocido por su excelente bioactividad y similitud con el hueso natural.

### 3.-Antecedentes del problema

Según un estudio realizado en 2021 TheraCal LC es altamente tóxico, en comparación con MTA y Biodentine.(39,40)

Biodentine tiene una mayor bioactividad y una mayor liberación de Calcio en comparación con TheraCal LC y la más baja bioactividad la obtuvo TheraCal PT.(41)

El Biodentine presenta una menor resistencia a la unión de materiales dentales que el MTA, después del fraguado inicial, también es menor su resistencia que los ionómeros. Cuando se usa el Biodentine con composite Filtek Z250, compómero Dyract y cemento RMGI Photac-Fil Quick Aplicap. (4,32,42)

En un estudio se comprobó que la colocación de un composite utilizando un adhesivo de grabado y enjuague de dos pasos sobre el MTA tiene más fuerza de unión, que un sistema todo en uno. (43)

TheraCal PT tiene una mayor citocompatibilidad *in vitro* y una mineralización en Células madre de pulpa dental humana (hDPSC), en comparación con TheraCal LC y sus propiedades son muy similares a Biodentine. (44)

Según estudios realizados el cemento de silicato di cálcico es más radiopaco que el MTA, aunque tiene el valor de radiopacidad recomendado por la norma ISO 6876/2017 que es de 3 mm/Al. (32) La radiopacidad del Biodentine combinado con óxido de zirconio es un material con buena radiopacidad. (31,45)

El MTA tiene una actividad antimicrobiana que se comprueba por la formación de zonas de inhibición de las cepas de *Enterococcus Faecalis*. (32,46)

Un estudio *in vitro* sugirió que los composites de silicato cálcico sin resina promueven la viabilidad celular y la bioactividad hacia las células pulpares mejor que los cementos de silicato cálcico con resina, el material TheraCal LC es tóxico para los fibroblastos, muestra formación de puentes de dentina con inflamación crónica leve y un espesor reducido de puentes de dentina, tiene un mayor efecto inflamatorio que el Biodentine, el TheraCal PT ofrece una cito compatibilidad *in vitro* y un potencial de mineralización mejores que su predecesor Theracal LC.(4,43,47)

Los hallazgos presentes confirman que tanto MTA como Biodentine son materiales confiables en cuanto a la inducción de la formación de puentes de dentina mientras mantienen una pulpa vital en procedimientos de recubrimiento pulpar directos e indirectos, mientras que el material Theracal LC se asoció a bajas tasas de viabilidad celular. (4,31,48)

### **2.3 Planteamiento del problema**

Durante muchos años, se han investigado materiales utilizados sobre la pulpa expuesta llamados recubrimientos pulpares directos, en un intento por conservar la vitalidad y función del diente. Desde que se introdujo esta técnica se utilizan diversos materiales, siendo el hidróxido de calcio el primero en ser introducido comercialmente, y hasta hace algún tiempo, se consideraba como el estándar de oro. Sin embargo, debido a que este material presenta varias desventajas, desde hace más de veinte años se han desarrollado materiales cuya base es el silicato cálcico, tales como el Mineral Trióxido Agregado y el Biodentine. Estos materiales, a pesar de tener gran éxito clínico, también poseen algunas desventajas que en diversas situaciones limitan su uso clínico. Es por este motivo que el incremento de materiales nuevos que puedan ser utilizados como recubrimientos pulpares de forma directa sobre la pulpa, se ha centrado en facilitar su manipulación y disminuir los tiempos necesarios para su aplicación, más que en evaluar sus efectos secundarios.. Actualmente se encuentran en el mercado materiales cuya base es silicato de calcio y componentes resinosos polimerizables, tales como el TheraCal LC y el TheraCal PT. Al ser de base resinosa, estos materiales son fáciles de manipular y su tiempo de fraguado es muy corto, con lo que se ven solventadas todas las principales dificultades que otros biocerámicos poseen. A pesar de esto, es importante resaltar que son escasos los estudios de laboratorio que nos permiten identificar las propiedades químicas, mecánicas y biológicas de estos materiales biocerámicos polimerizables. Al carecer de este tipo de estudios iniciales, predecir el comportamiento clínico de estos materiales a largo plazo es aún un desafío en la odontología. Debido a lo anterior en este trabajo se busca realizar una caracterización de estos nuevos materiales, de manera que se puedan comparar sus propiedades con otros biocerámicos bien establecidos en el mercado y así poder predecir, en cierta forma, su comportamiento clínico. De este modo, en la presente investigación se plantea la siguiente pregunta de investigación:

¿Los cementos de protección pulpar a base de silicato de calcio muestran mejores propiedades mecánicas, químicas y biológicas que los cementos a base de silicato de calcio polimerizables?

### III JUSTIFICACIÓN

Una razón principal para acudir al odontólogo es el dolor dental, y este es causado por la inflamación de la pulpa dental, donde el tratamiento de elección es la endodoncia, un tratamiento de varias citas, y con pronóstico reservado. Por este motivo, la odontología mínimamente invasiva busca no llegar al tratamiento endodóntico, y en caso de que haya caries, traumatismos o malformaciones genéticas que comprometan la salud de la pulpa dental, esta sea cubierta por un material protector que estimule la formación de puentes de dentina de reparación. A pesar de que hoy en día contamos con diferentes materiales para este propósito, ninguno de ellos se acerca a considerarse un material ideal. Por ejemplo, el hidróxido de calcio tiene las siguientes desventajas es que tiene una alta solubilidad y falta de adhesión a los tejidos dentales, además puede ocasionar filtraciones en el material restaurador, entre las desventajas del MTA encontramos una difícil manipulación, su alto costo, gran tiempo de fraguado de 3-4 horas, posee una fuerza compresiva baja y una radiopacidad mayor que la dentina, presenta alta porosidad, absorción de agua y solubilidad. Entre las desventajas de Biodentine encontramos una escasa radiopacidad, aunque libera calcio en soluciones semi líquidas, también contamos con materiales de base polimerizable como TheraCal LC y TheraCal PT, los cuales están siendo utilizados clínicamente sin contar con estudios suficientes que avalen su efectividad, además, de algunos de ellos no existen estudios *in-vitro* que nos permita identificar sus propiedades, y de esta manera, se pueda predecir, bajo ciertas reservas, su comportamiento clínico, en algunos otros a pesar de contar con numerosos estudios *in-vitro*, no se ha logrado identificar la diferencia entre marcas comerciales que se usan en México, y es recomendable realizar más estudios comparativos de este tipo derivado de la deficiencias en el rendimiento de los mismos. Esta es la razón por la cual analizar las propiedades mecánicas,

químicas y biológicas de estos materiales nos permitirá conocer su comportamiento y poder emitir recomendaciones sobre futuros ensayos clínicos a ser realizados, de manera que los profesionales de la salud tengan más información al respecto y puedan utilizarlos con mayor confianza.

#### **IV HIPÓTESIS**

Hipótesis nula: Las propiedades mecánicas, químicas y biológicas de materiales polimerizables de silicato de calcio utilizados como agentes de recubrimiento pulpar directo serán similares a las propiedades de materiales biocerámicos de base acuosa.

Hipótesis alternativa: Las propiedades mecánicas, químicas y biológicas de materiales polimerizables de silicato de calcio utilizados como agentes de recubrimiento pulpar directo serán superiores a las propiedades de materiales biocerámicos de base acuosa.

#### **V OBJETIVOS**

##### 5.1. Objetivo General

Caracterizar física, mecánica y biológicamente los recubrimientos pulpares Biodentine® (Septodont), MTA (Viarden), TheraCal LC (Bisco) y TheraCal PT (Bisco).

##### 5.2. Objetivos Específicos

- Determinar la resistencia compresiva por medio de un ensayo de compresión, de MTA, Biodentine, TheraCal LC y TheraCal PT.
- Determinar la resistencia de unión a materiales resinosos con una prueba de cizallamiento, de MTA, Biodentine, TheraCal LC y TheraCal PT.
- Determinar la radiopacidad por el método de radiación, de MTA, Biodentine, TheraCal LC y TheraCal PT.

- Determinar la bio mineralización *in vitro* con microscopía electrónica de barrido, de MTA, Biodentine, TheraCal LC y TheraCal PT.
- Determinar la viabilidad celular a través del ensayo colorimétrico de proliferación celular MTT, de MTA, Biodentine, TheraCal LC y TheraCal PT.

## **VI MATERIALES Y METODOS**

### **6.1 Contexto de la investigación**

Esta investigación fue realizada en el laboratorio de materiales dentales perteneciente al Área académica de Odontología, ubicado en la Ciudad del Conocimiento de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo; de igual forma parte de las pruebas fueron realizadas en el Laboratorio de Materiales Cerámicos de la Facultad de Odontología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, y en el laboratorio de nanoestructuras y biomateriales dentales de la Escuela Nacional de Estudios Superiores, Unidad León, Guanajuato, en el periodo de febrero-diciembre del 2023.

#### Tipo y diseño de estudio

Esta investigación es de tipo mixto, experimental, *in vitro*, observacional y transversal.

### **6.2 Selección de la población, criterios de inclusión y exclusión**

Se elaboraron especímenes a partir de los siguientes materiales: Biodentine® (Septodont), MTA (Viarden), TheraCal LC (Bisco) y TheraCal PT (Bisco). Utilizando el mismo número de lote para cada uno.

Los criterios de inclusión para los especímenes fueron que estuvieran preparados en el laboratorio y con dimensiones, bordes y superficies estandarizadas.

Y el criterio de exclusión: fue eliminar los especímenes que mostraron defectos en su elaboración.

### 6.3 Tamaño de muestra y muestreo

Para el ensayo de resistencia compresiva, el tamaño de la muestra, fue estimado a partir de estudios similares que evaluaron la resistencia compresiva de diferentes materiales utilizados como agentes de recubrimiento pulpar. Este estudio fue realizado con 4 grupos independientes, una diferencia de medias mínima detectable de 129.27 MPa, una desviación estándar de 1.41, un poder estadístico de 0.8 y una significancia  $\alpha$  de 0.05. Con base en estos parámetros, el tamaño de la muestra será de 5 especímenes.

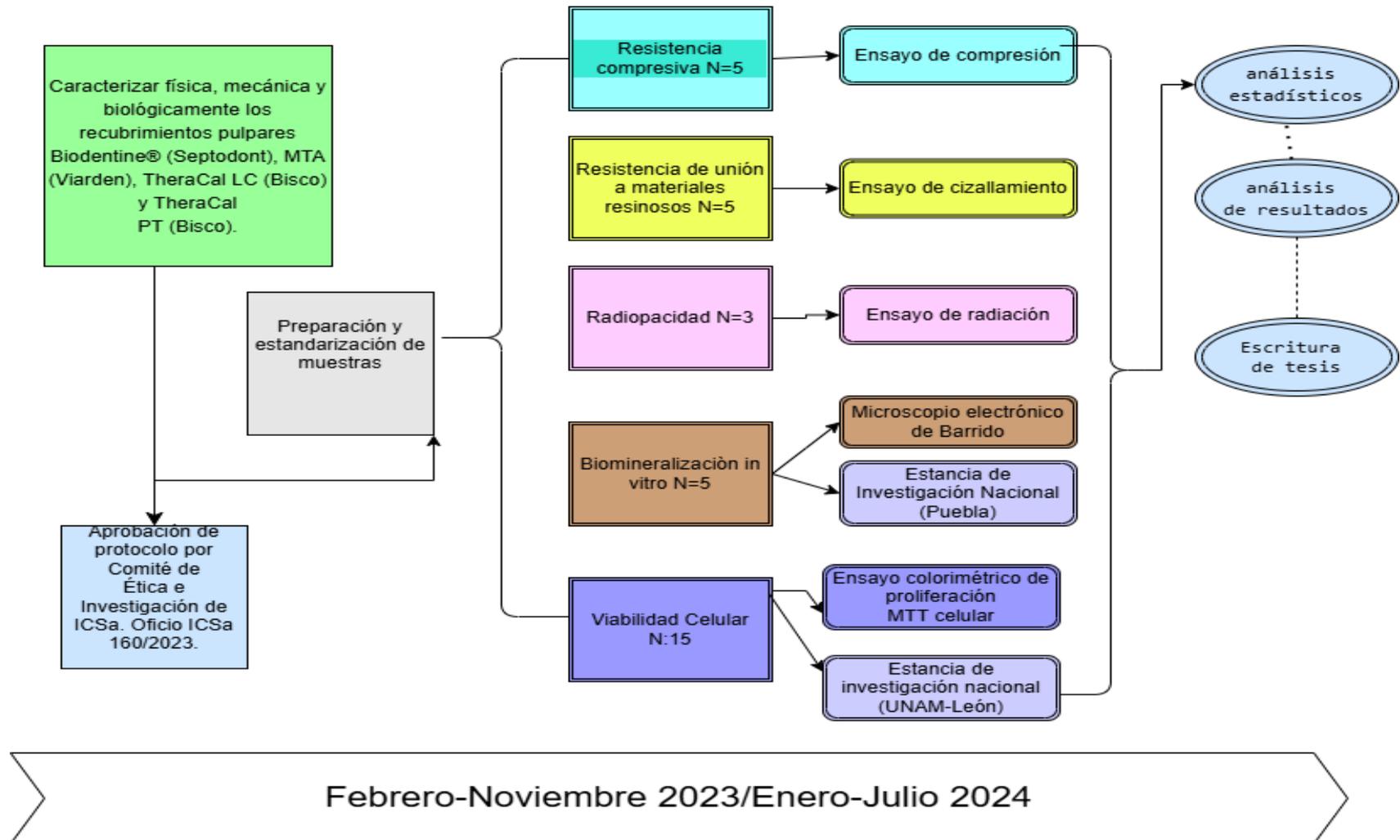
Para el ensayo de resistencia de unión a materiales resinosos, el tamaño de la muestra, fue estimado a partir de estudios similares que evaluaron la resistencia de unión a materiales resinosos de diferentes materiales utilizados como agentes de recubrimiento pulpar. La muestra fue de 4 grupos independientes, una diferencia de medias mínima detectable de 5.91 MPa, una desviación estándar de 1.6, un poder estadístico de 0.8 y un  $\alpha$  de 0.05. Con base en estos parámetros, el tamaño de la muestra será de 5 especímenes.

Para el ensayo de radiopacidad, el tamaño de la muestra, fue estimado a partir de un estudio similar que evaluó la radiopacidad de diferentes materiales utilizados como agentes de recubrimiento pulpar, para un estudio con 4 grupos independientes, una diferencia de medias mínima detectable de 3.27 mm of Al, una desviación estándar de 0.35, un poder estadístico de 0.8 y un  $\alpha$  de 0.05. Con base en estos parámetros, el tamaño de la muestra será de 3 especímenes.

Para el ensayo de bio-mineralización *in vitro*, el tamaño de la muestra, fue estimado a partir de un estudio similar que evaluó la bio-mineralización *in vitro* de diferentes materiales utilizados como agentes de recubrimiento pulpar. Con una muestra de 4 grupos independientes, un poder estadístico de 0.8 y un  $\alpha$  de 0.05. Con base en estos parámetros, el tamaño de la muestra será de 5 especímenes.

Para el ensayo de viabilidad celular, el tamaño de la muestra, fue estimado a partir de estudios similares que evaluaron la viabilidad celular de diferentes materiales utilizados como agentes de recubrimiento pulpar. La muestra con 7 grupos independientes, incluyendo un control negativo y un positivo, Con base en estos parámetros, el tamaño de la muestra será de 20 especímenes para contacto directo y 20 para contacto indirecto, con una significancia  $\alpha$  de 0.05.

#### 6.4 Diagrama de diseño experimental



## 6.5 Definición de variables (dependientes, independientes)

Considera un diseño de estudio con las siguientes variables:

1. Variables dependientes: Resistencia compresiva, resistencia a la unión de materiales resinosos, radiopacidad, viabilidad celular, y bio-mineralización *in vitro*.
2. Variable independiente: Material Bioactivo (Biodentine® (Septodont), MTA (Viarden), TheraCal LC (Bisco) y TheraCal PT (Bisco)).

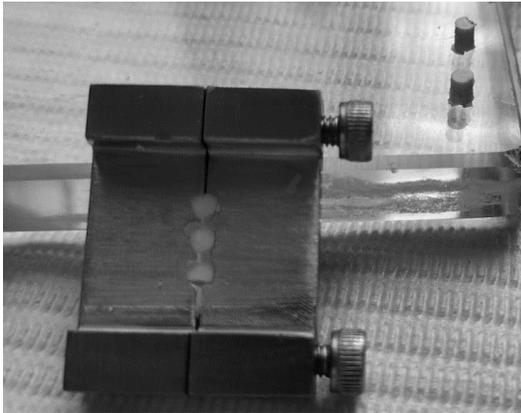
VARIABLE	TIPO	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	UNIDAD DE MEDIDA
Resistencia compresiva	Dependiente	Capacidad para soportar una carga o fuerza compresiva por unidad de área.	Resistencia en Megapascal calculada conforme a la siguiente fórmula: $CS = 4F/\pi d^2$ . Donde F es la fuerza máxima aplicada y d es el diámetro de cada espécimen.	Megapascal (MPa)
Resistencia de unión a materiales resinosos	Dependiente	Es la fuerza que se necesita para ocasionar una fractura en la interfase de conexión entre dos materiales.	Tensión en Megapascal generada por una fuerza de cizallamiento entre un cilindro de resina y la superficie de un biocerámicos.	Megapascal (MPa)
Radiopacidad	Dependiente	Es la capacidad que tiene un determinado material de impedir el paso de rayos X a la película radiográfica, visualizándose en la radiografía como un área blanca.	Niveles de gris del histograma de imágenes digitalizadas de cilindros de especímenes de materiales biocerámicos irradiados con rayos X.	Milímetros de aluminio (mm/Al)
Viabilidad celular	Dependiente	Cantidad de células sanas en una muestra determinada.	Porcentaje de células vivas obtenido a través de un ensayo colorimétrico. $\% \text{ viabilidad} = \frac{\text{células tratadas}}{\text{células control}} \times 100$	Porcentaje (%)
Bio-mineralización <i>in vitro</i>	Dependiente	Formación de una matriz orgánica seguida de una nucleación heterogénea inotrópica de sales de calcio y fosfatos, mediante la formación y el crecimiento de hidroxiapatita.	Identificación de iones calcio y fosfato en la superficie de materiales con microscopía electrónica de barrido para determinar la formación de apatita en su superficie.	Observacional (microesferas)

Prueba (principio y procedimiento)

### **Determinación de la resistencia compresiva.**

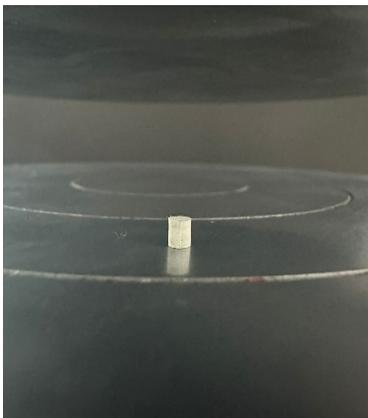
Fundamento: Consiste en romper una probeta cilíndrica de 6 mm de diámetro por 4 mm de altura. Los resultados se expresan en una curva de tensión- deformación, en un módulo de resistencia.

Procedimiento:

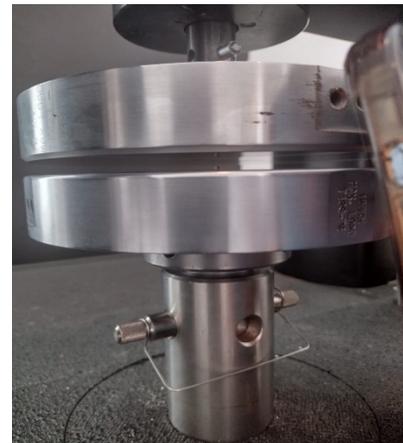


1.- Se elaboraron 5 probetas cilíndricas de 6mm de diámetro por 4mm de altura.

2.- Se inserto el material en un molde y fotopolimerizo durante 20s con una intensidad de 1000 mW/cm<sup>2</sup> por cada lado, para los materiales fotopolimerizables, y se almacenaron durante 24 h a 37 °C.



3.- El ensayo de compresión se realizó en una máquina universal de ensayos mecánicos (Instron 4465, Norwood, MA, USA), utilizando una celda de carga de 1kN a una velocidad de 1 mm por



minuto.

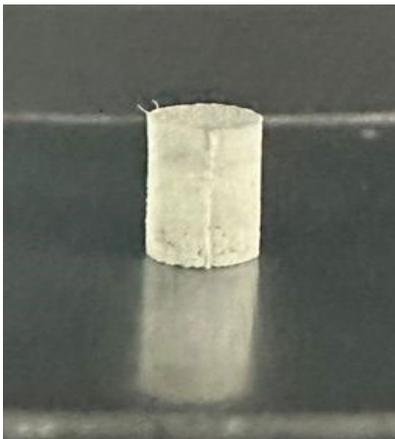
5.- Se calculo la resistencia a la compresión conforme a la siguiente fórmula:  $CS = \frac{4F}{\pi d^2}$ . Donde F es la fuerza máxima aplicada y d es el diámetro de cada espécimen, los resultados se expresan en megapascales (Mpa).

## Determinación de la resistencia de unión a materiales resinosos

Fundamento: El ensayo de resistencia de unión al cizallamiento se realizará en una máquina universal de ensayos mecánicos (Instron 1145, Norwood, EUA) a una velocidad de cruceta de 1.0 mm/min hasta la falla, cantidad de fuerza horizontal que un material puede resistir antes de romperse.

1.- Se elaboraron 5 bloques cilíndricos de acrílico rápido, con un orificio en el centro con una profundidad de 2 mm y un diámetro interno de 5 mm.

2.- Se lleno cada orificio con los materiales experimentales y se fotopolimerizo durante 20 s, con una lampara con una intensidad de  $1000 \text{ mW/cm}^2$ , los materiales fotopolimerizables.



3.- Se guardan las muestras a  $37^\circ\text{C}$  en un ambiente con 100% de humedad relativa.

5.- Se aplico una capa de ácido fosfórico a 37% de la marca Dental Flux, por 30 segundos, se lavó con suficiente agua.

4.- Se aplico un adhesivo Single Bond Universal sobre la superficie del material durante 10 segundos con una

lampara con una intensidad de  $1000 \text{ mW/cm}^2$ .

5.- Se coloco una matriz de silicón cilíndrica con 2 orificios de 1.4 mm de diámetro interno y cada orificio fue llenado con un incremento de resina compuesta Filtek Z250 (3M ESPE, EEUU) y fotopolimerizado durante 20 segundos con una unidad



de fotopolimerización con una intensidad de  $1000 \text{ mW/cm}^2$ . Después de la fotopolimerización, la matriz de silicona fue removida para exponer 2 cilindros de resina compuesta.

6.- Se guardaron las muestras en agua destilada a  $37^\circ\text{C}$  durante 24 h para ser sometidas a un ensayo de resistencia de unión al cizallamiento

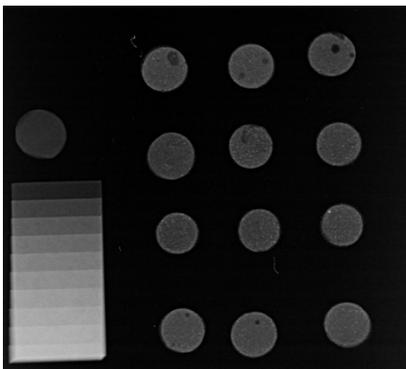
La resistencia de unión (en MPa) será calculada dividiendo la carga (en Newtons), con el área de interfaz de la unión (mm<sup>2</sup>).

7.- Se sometieron las muestras a un ensayo de cizallamiento en una máquina universal de ensayos mecánicos (Instron 1145, Norwood, EUA) a una velocidad de cruceta de 1.0 mm/min hasta la falla, los resultados se expresan en megapascales (Mpa).

### **Determinación de la radiopacidad**

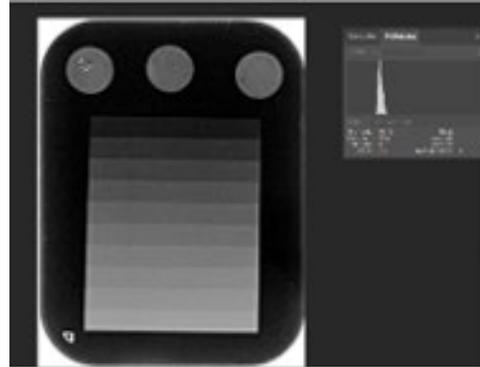
Fundamento: La fuente de rayos X (DabiAtlante modelo Spectro 70X) debe ser operada con un ánodo de tungsteno a 70 kV y 8 mA. Para todas las imágenes, se debe colocar una escala de aluminio simultáneamente con las muestras. El grosor de la escala de aluminio debe oscilar entre 0.5 y 5.0 mm en incrementos de 0.5 mm. La aleación de aluminio debe contener Al, 99.12; FE, 0.47; magnesio, 0.41; y < 0.1 de Cu (masa%), cumpliendo con los estándares ISO 6876 (Estandarización 2001).

1.- Se elaboraron 3 probetas cilíndricas de 6mm de diámetro por 4mm de altura.



2.- Se obtuvieron imágenes de rayos X de 3 muestras cilíndricas (6.0 mm ( $\pm 0,5$  de diámetro y 1.0 mm de espesor) mediante un sistema digital con placas de fósforo (VistaScan; Dürr Dental GmbH & CO. KG, Bietigheim-Bissingen, Alemania) con un tiempo de exposición de 0.4 s y una distancia de película de enfoque de 400 mm.

3.- Se guardaron las imágenes en formato TIFF y se analizaron con el software Photoshop (Adobe Systems Incorporated, San José, CA, EE. UU.). Las medias y las desviaciones estándar de los niveles de gris (densidad de píxeles) de la escala de aluminio y las muestras



se midieron en un área estandarizada de 1.5 mm<sup>2</sup>, los resultados se expresan en milímetros de aluminio (mm/Al).

### **Valoración de la bio-mineralización *in vitro*.**

Fundamento: La microscopia Electrónica de Barrido (MEB) es una de las técnicas más utilizadas para la observación de la superficie de biomateriales, ya que ofrece imágenes tridimensionales con buena profundidad de campo y resolución. Las muestras deben ser un conductor eléctrico, por esta razón las muestras analizadas serán recubiertas con una capa fina de oro entre 10 y 40 µm, para observar la formación de cristales de hidroxiapatita.

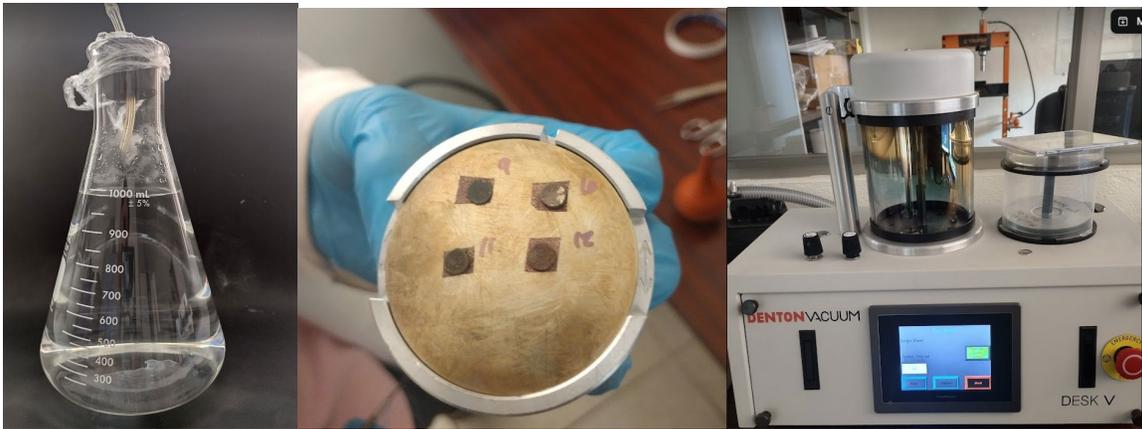


1.- Se prepararon muestras cilíndricas (5× 2 mm) para cada uno de los grupos formulados.

2.- Se preparo un fluido corporal simulado (FCS) con las siguientes sales y líquidos cloruro de sodio, hidrogeno carbonato de sodio, cloruro de potasio, hidrogeno fosfato dipotásico trihidrato, Cloruro de magnesio hexahidrato, cloruro de calcio, sulfato de sodio, tris-hidroximetilaminometano, solución de ácido clorhídrico, conforme a la norma ISO 23317:2014, fluido libre de calcio y magnesio. En la sección de anexos se detalla la forma de preparación.



3.- Se sumergieron las muestras en una solución FCS en condiciones estáticas durante tres semanas a 37 °C. Para evitar la saturación del medio, la solución FCS fue reemplazada cada semana.



4.- Después de tres semanas, se lavaron las muestras con agua destilada y secaron a 80° C por 24 h, y posteriormente se recubrieron con oro para ser analizadas por microscopía electrónica de barrido para determinar la formación de hidroxapatita en su superficie, esta prueba es de tipo cualitativo por lo que solo se observó la formación de cristales de hidroxapatita.

### **Determinación de la viabilidad celular.**

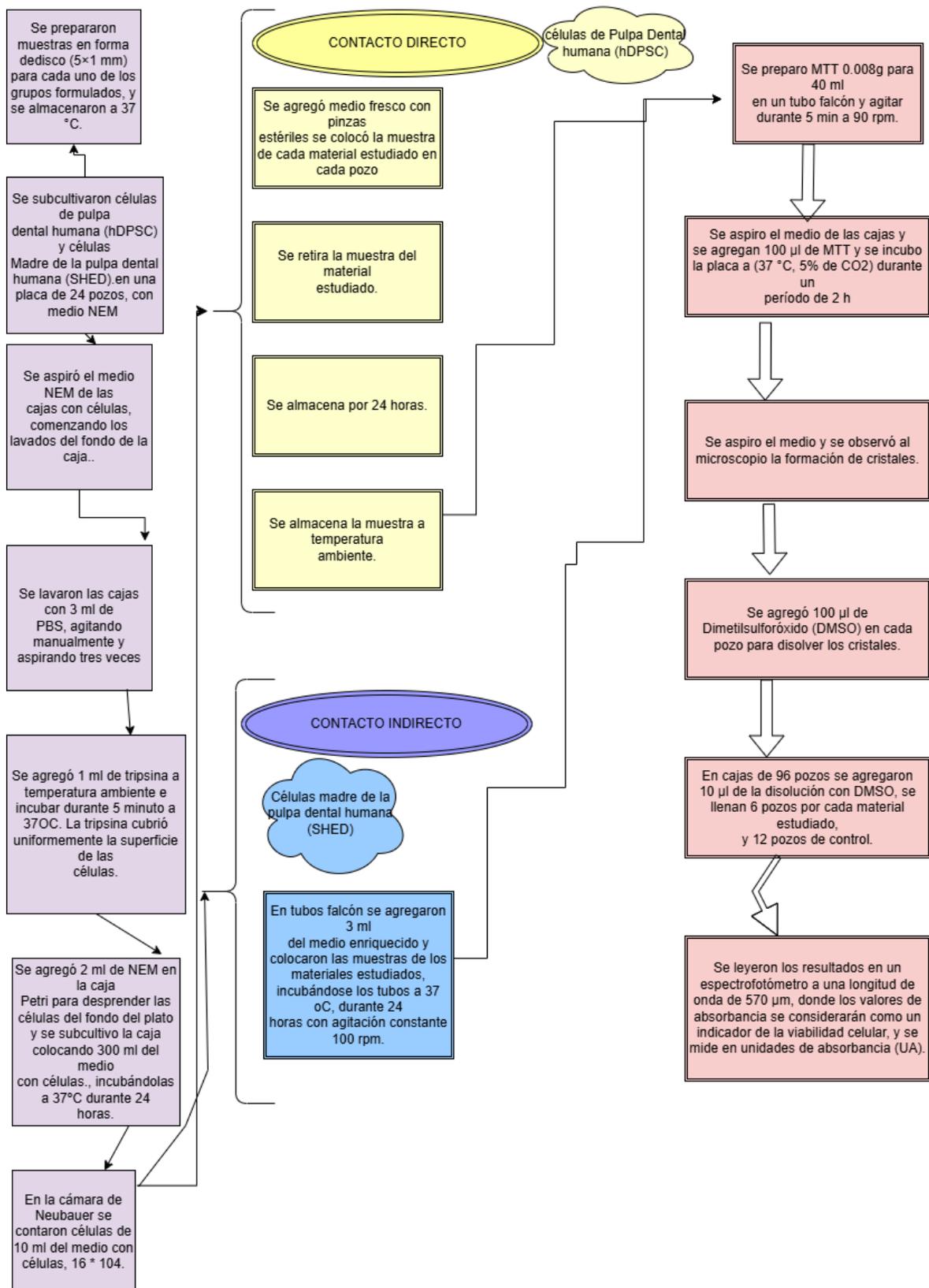
Fundamento: Realizar de acuerdo con la norma ISO 10993-5 (2009), se evaluará mediante el ensayo MTT que mide la actividad metabólica de la célula como indicador de su viabilidad, este ensayo colorimétrico está basado en la reducción de la sal de tetrazolio amarilla (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio o MTT) formando cristales de formazan de color morado en las células activas metabólicamente.

Estas células están formadas por enzimas oxidorreductasas que dependen del NAD(P)H que reduce el MTT a formazan. Los cristales insolubles de formazan se disuelven, resultando una disolución coloreada que es cualificada midiendo su absorbancia de 500 a 600  $\mu\text{m}$  en un espectrofotómetro de microplacas (Multiskan go, Thermo-Scientific, Helsinki, Finlandia), entre más oscura la disolución mayor la cantidad de células viables metabólicamente. Este ensayo se realizó por triplicado, con especímenes en contacto directo en células madre de la pulpa dental humana. e indirecto en células madre de dientes deciduos exfoliados humanos (SHED)



Preparación de muestras, muestras en medio, cultivos en células madre dentales, espectrofotómetro.

## Diagrama del experimento de viabilidad celular.



## 6.6 Análisis Estadístico

Los datos obtenidos para cada una de las pruebas fueron analizados previamente para comprobar la normalidad y homogeneidad de varianza, los test de Shapiro-Wilk y Levene fueron realizados respectivamente. Al final, los datos se analizaron mediante una prueba de ANOVA de una vía y la prueba post hoc de Tukey ( $p < 0,05$ ). Para todas las pruebas estadísticas se utilizó el software Jamovi 2.5.6.

## VII RESULTADOS

### 7.1 Resistencia compresiva

La figura 3 muestra la media y  $\pm$ DE de la resistencia compresiva de los diferentes materiales estudiados. De acuerdo con el análisis estadístico de ANOVA, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ( $p=0.001$ ). Derivado de esto, se procedió a realizar una prueba Post-Hoc de Tukey, la cual reveló que TheraCal PT fue el material con el valor más alto ( $p \leq 0.001$ ). Por otro lado, las diferencias entre MTA, Biodentine® y TheraCal LC, no fueron estadísticamente significativas ( $p \geq 0.052$ ).

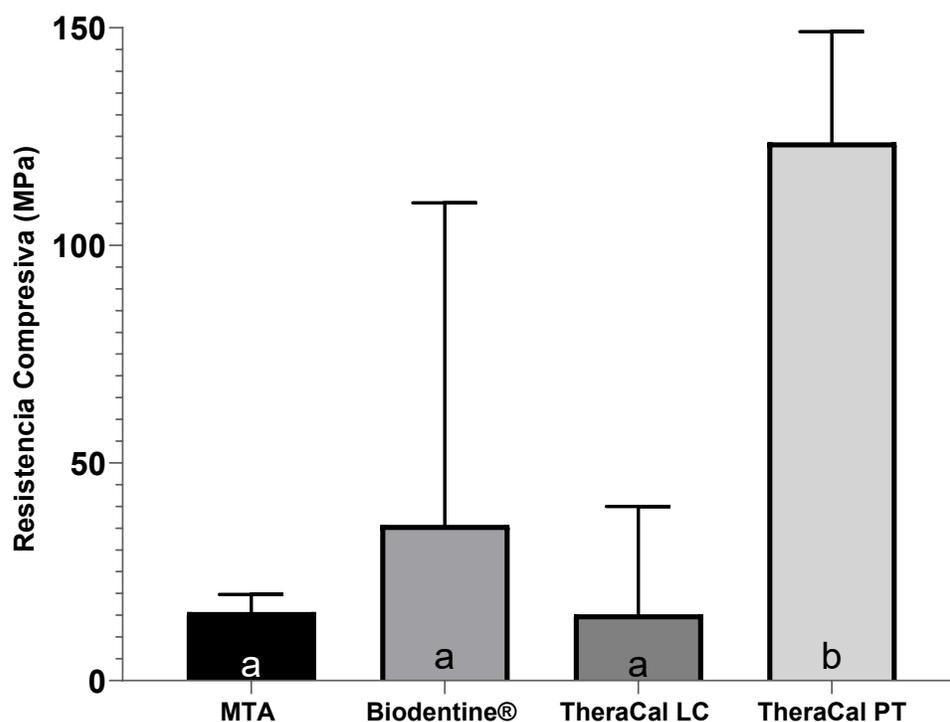


Figura 3. Valores medios de resistencia compresiva en MPa y  $\pm$ DE, obtenidos del ensayo de compresión. Letras minúsculas diferentes indican la presencia de diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

## 7.2 Resistencia de unión a materiales resinosos

La figura 4 muestra la media y  $\pm$ DE de la resistencia de unión al cizallamiento a materiales resinosos de los diferentes materiales estudiados. Los datos fueron analizados a través de un análisis de varianza (ANOVA), obteniendo un valor de  $p$  de 0.001, que indica que existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. La prueba Post-Hoc de Tukey demostró que TheraCal PT mostro el mayor valor de resistencia de unión ( $p \leq 0.001$ ). Los valores de TheraCal LC fueron significativamente mayores a los de MTA y Biodentine ( $p \leq 0.003$ ). Finalmente, las diferencias entre MTA y Biodentine no fueron estadísticamente significativas ( $p = 0.976$ ).

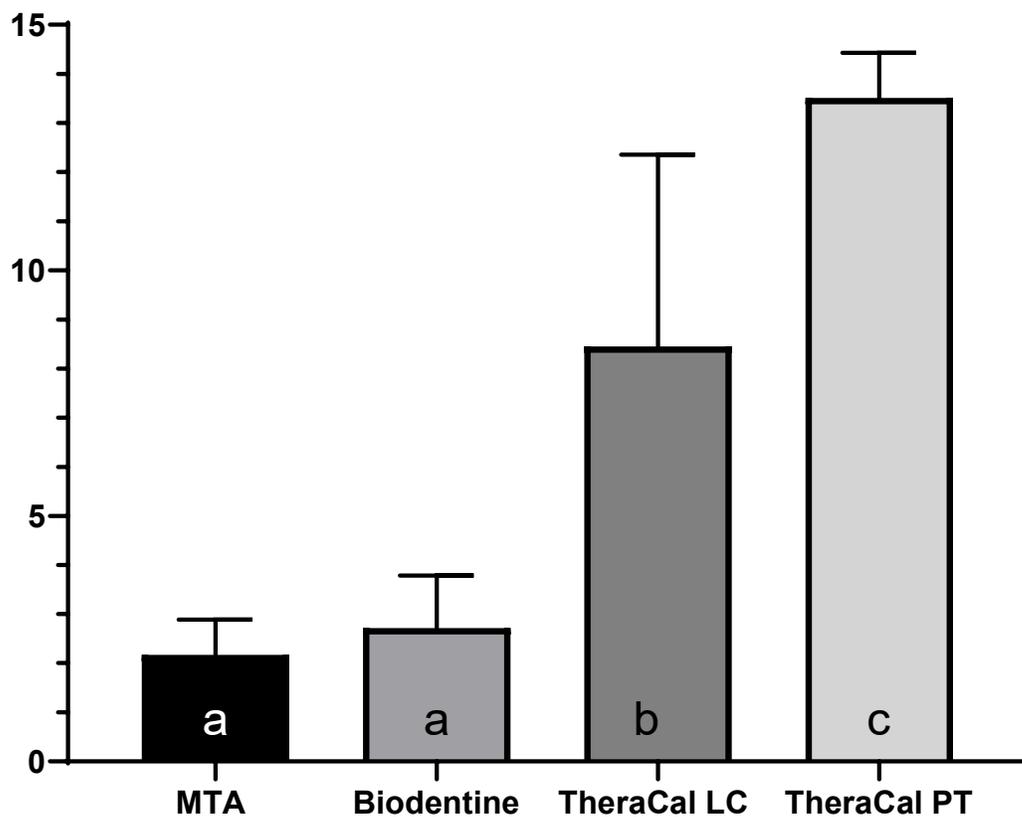


Figura 4. Valores medios de resistencia de unión a materiales resinosos (MPa) y  $\pm$ DE obtenidos del ensayo de cizallamiento. Letras minúsculas diferentes indican la presencia de diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

### 7.3 Radiopacidad

La figura 5 muestra la media y  $\pm$ DE de la radiopacidad de los diferentes materiales estudiados. Los datos fueron analizados a través de un análisis de varianza (ANOVA), obteniendo una  $p=0.001$ , que indica que existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. La prueba Post-Hoc de Tukey demostró que el valor más alto de radiopacidad fue para MTA  $p<0.001$ . Los valores de TheraCal LC fueron significativamente mayores a los de Biodentine® y TheraCal PT ( $p \leq 0.002$ ). Finalmente, las diferencias entre Biodentine y TheraCal PT no fueron estadísticamente significativas ( $p = 0.994$ ).

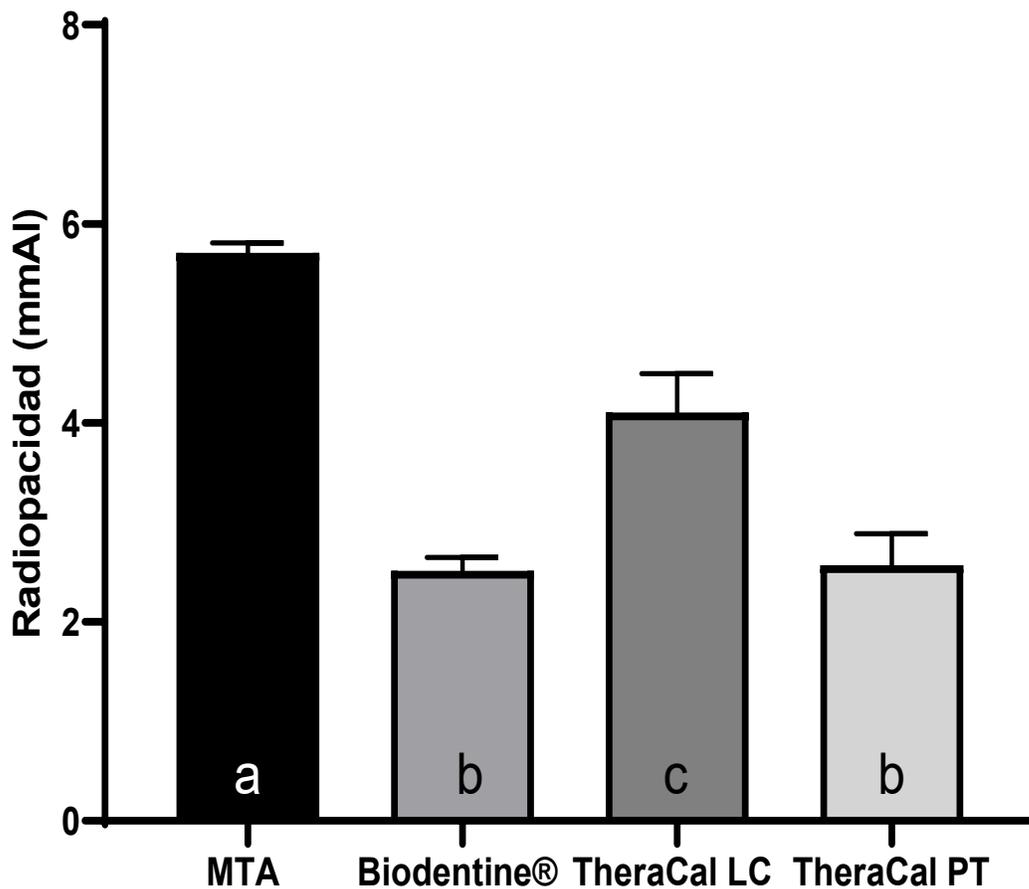


Figura 5. Valores medios de radiopacidad en mm/Al y  $\pm$ DE. Letras minúsculas diferentes indican la presencia de diferencias estadísticamente significativas ( $p<0.05$ ).

#### 7.4 Bio-mineralización in vitro

Las figuras 6-9 muestran micrografías de las superficies de los materiales sometidos al ensayo de bio-mineralización *in vitro*. En la figura 6 muestra al espécimen de Biodentine, el cual presenta la mayor formación de fosfatos de calcio, principalmente de tipo esfenoidal. Por otro lado, la figura 7 se puede observar la formación de fosfatos de calcio en la superficie del espécimen de MTA, la hidroxiapatita presenta morfología tipo esferulita y esfenoidales. Finalmente, en la figura 8 (TheraCal LC), y figura 9 (TheraCal PT), se muestra la escasa formación de fosfatos de calcio en la superficie de los materiales resinosos.

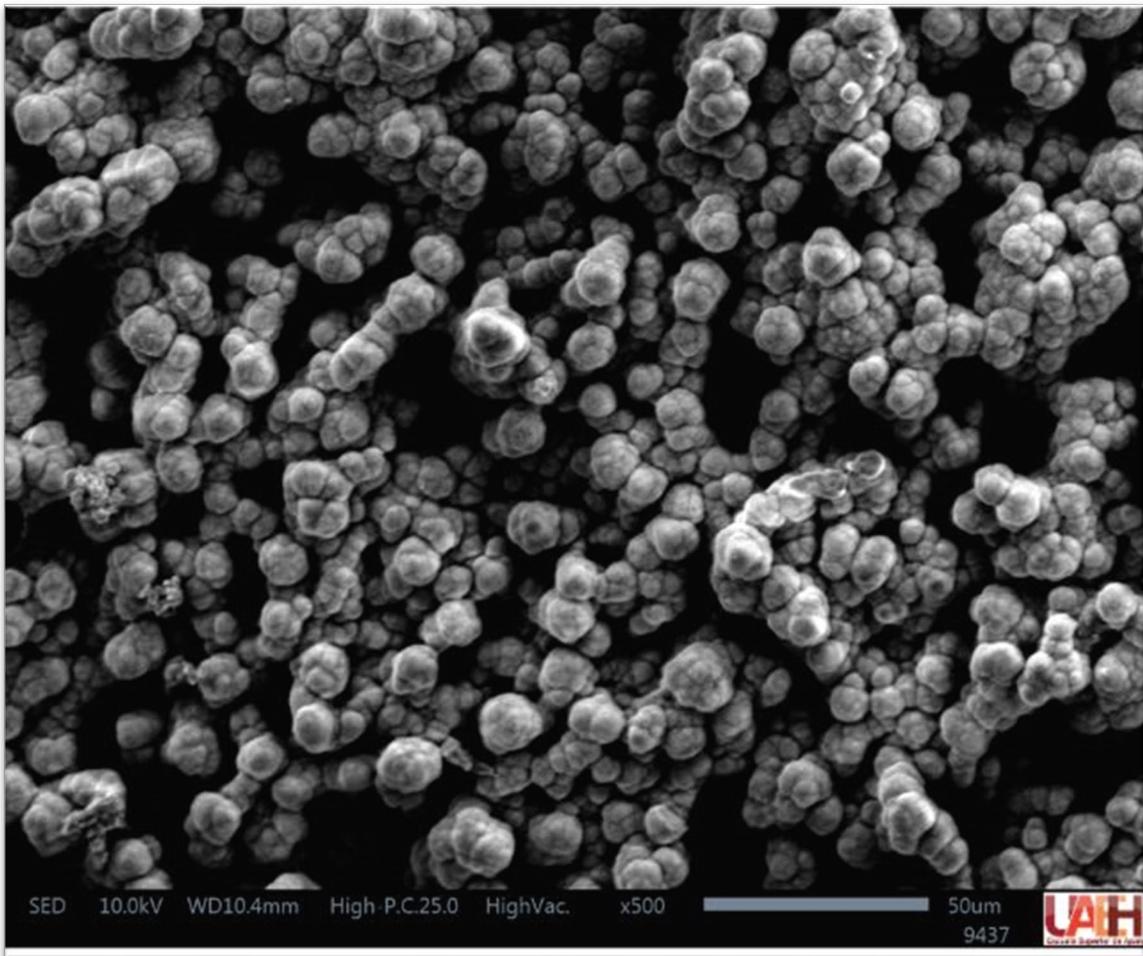


Figura 6 Imagen tomada del MEB 500X de la superficie de Biodentine, se puede observar formación de fosfatos de calcio, principalmente de morfología esfenoidal.

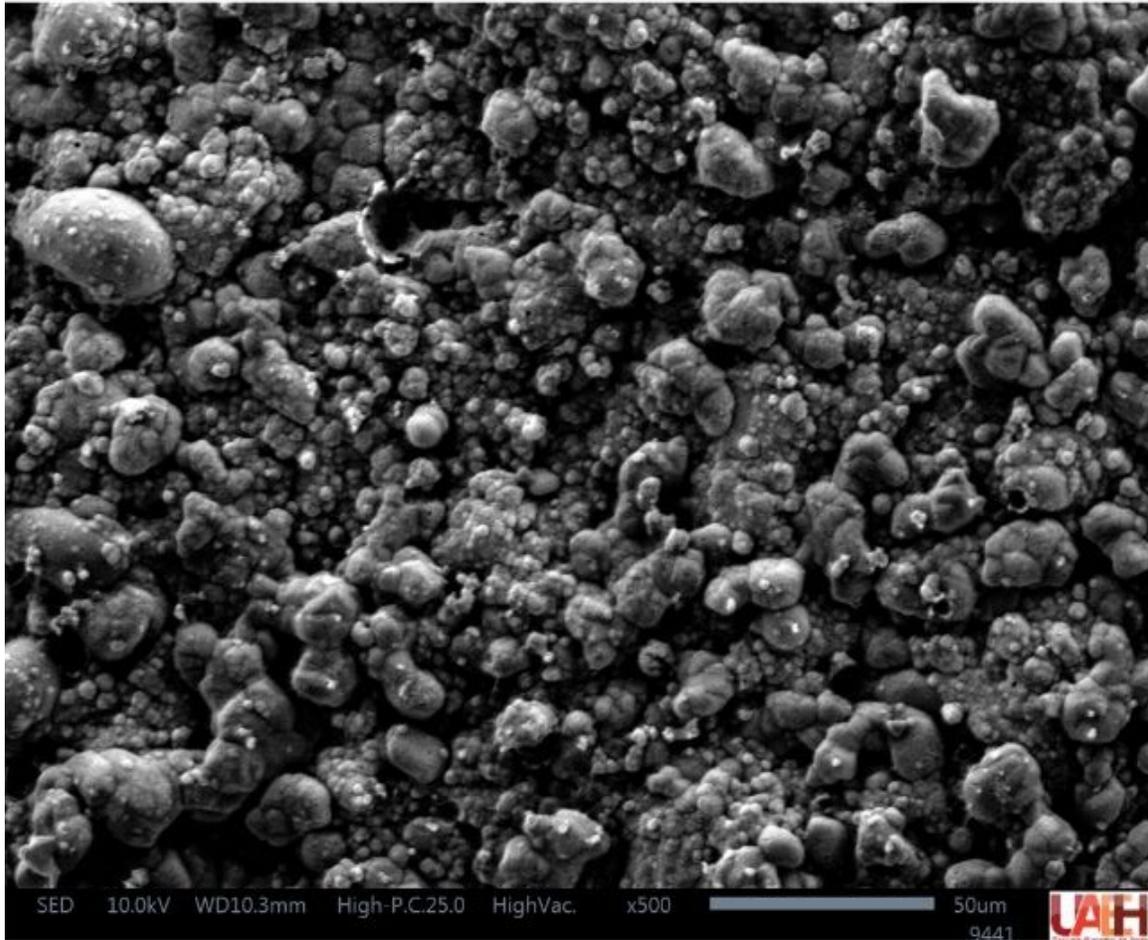


Figura 7.. Imagen tomada del MEB 500X de la superficie de MTA (Viarden), se puede observar formación de fosfatos de calcio, principalmente de morfología esferulita y esfenoidal.

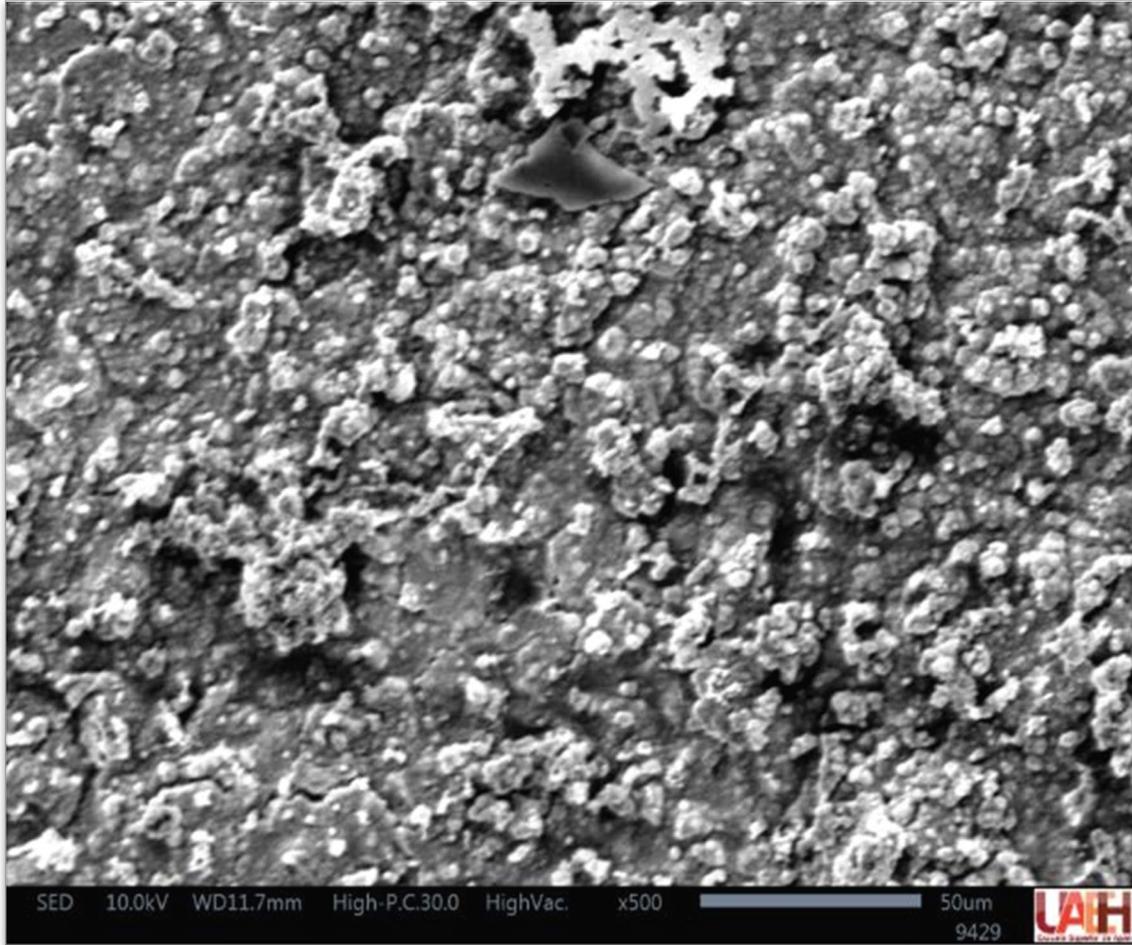


Figura 8. Imagen tomada de MEB 500Xde la superficie de TheraCal LC, se puede observar una muy baja formación de fosfatos de calcio.

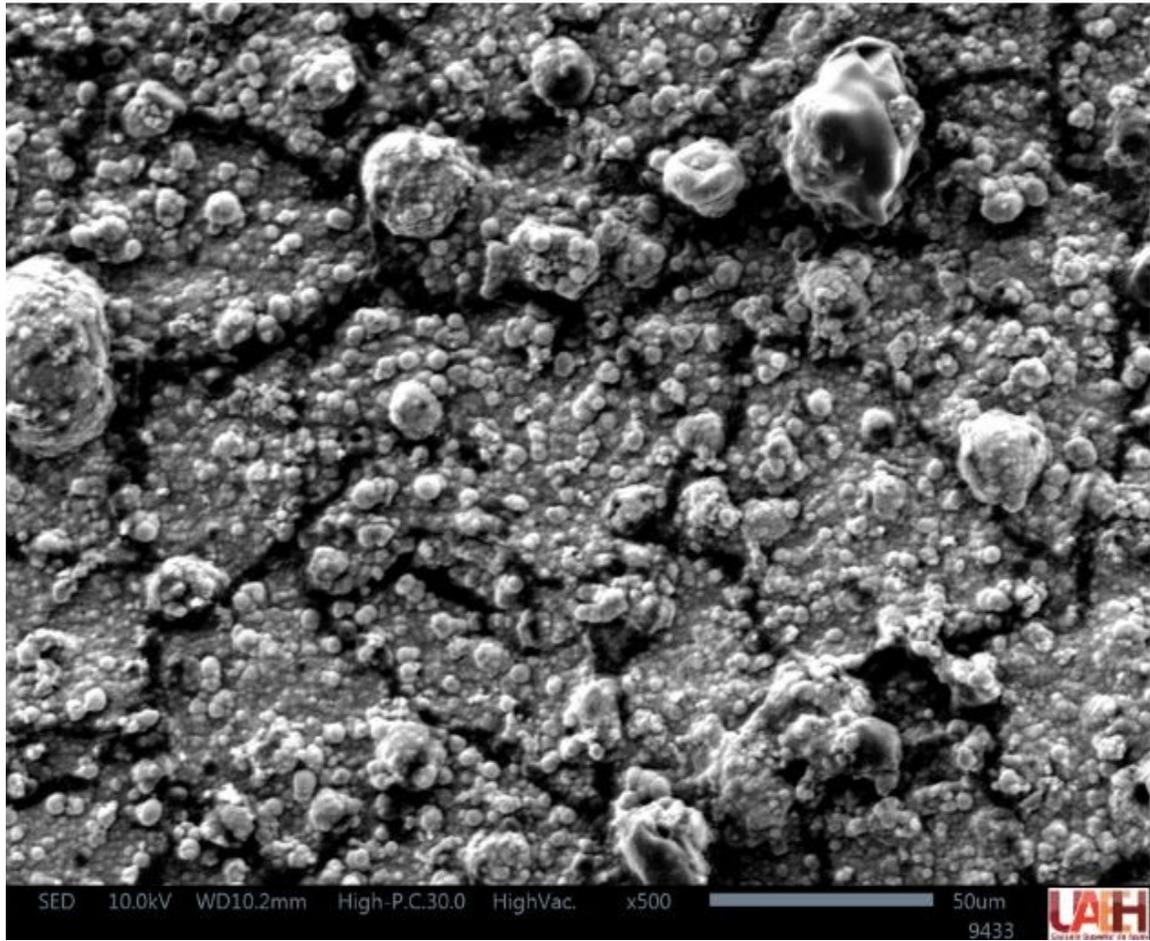


Figura 9. Imagen tomada de MEB 500X de la superficie de TheraCal PT, se puede observar una muy baja formación de fosfatos de calcio.

### 7.5. Viabilidad Celular

La figura 10 muestra el porcentaje y  $\pm$ DE de la viabilidad celular en contacto directo con células madre de pulpa dental humana (hDPSC) de los diferentes materiales estudiados. De acuerdo con el análisis estadístico de ANOVA, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ( $p=0.001$ ). Derivado de esto, se procedió a realizar una prueba Post-Hoc de Tukey, la cual reveló que el grupo control (PBS) con MTA obtuvo una  $p=706$  por lo que no existen diferencias de valor entre ellas. El valor de viabilidad celular obtenido para MTA fue significativamente mayor al de Biodentine, TheraCal LC TheraCal PT ( $p \leq 0.001$ ). Por otro lado, las diferencias entre Biodentine, TheraCal LC y TheraCal PT no fueron estadísticamente significativas ( $p \geq 0.983$ ).

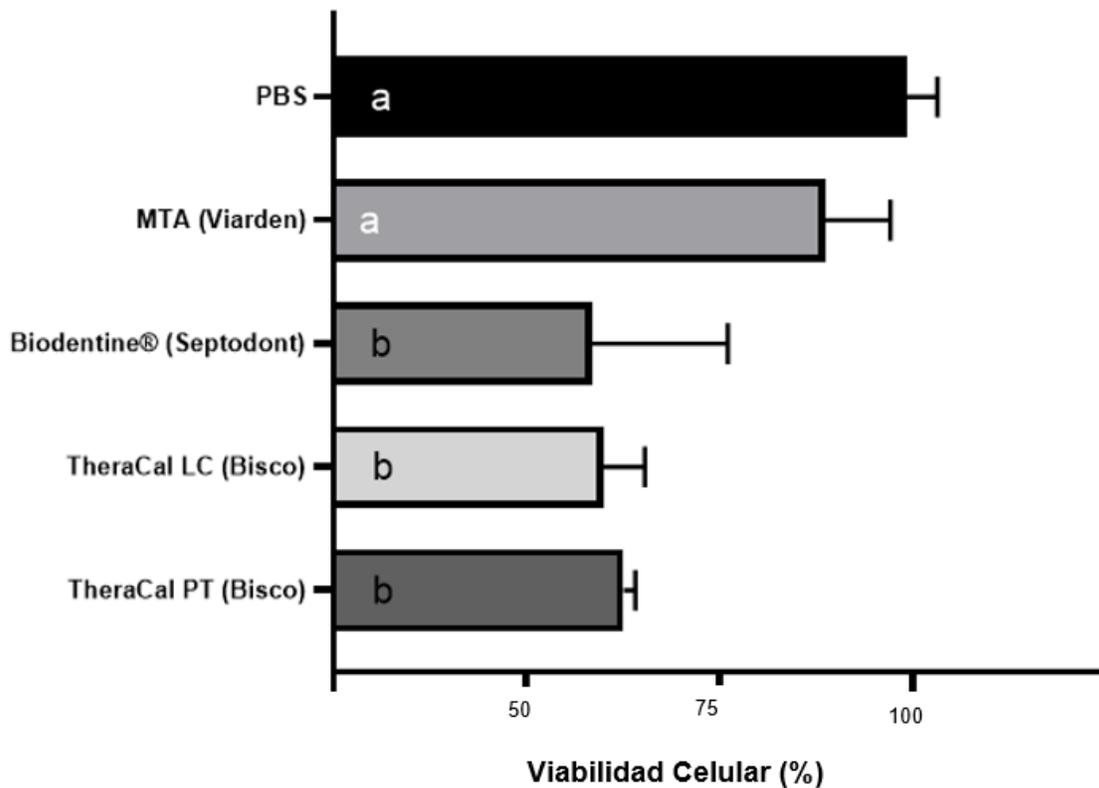


Figura10. Porcentaje de viabilidad celular en hDPSC en contacto directo y su  $\pm$ DE. Letras minúsculas diferentes indican la presencia de diferencias estadísticamente significativas ( $p<0.05$ ).

La figura 11 muestra el porcentaje y su  $\pm$ DE de la viabilidad celular en contacto indirecto con hDPSC de los diferentes materiales estudiados. De acuerdo con el análisis estadístico de ANOVA, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ( $p=0.001$ ). Derivado de esto, se procedió a realizar una prueba Post-Hoc de Tukey, la cual reveló que las diferencias entre el grupo control (PBS), Biodentine y TheraCal PT no fueron estadísticamente significativas ( $p \geq 0.024$ ). Por otro lado, MTA, y TheraCal LC obtuvieron valores significativamente menores que el grupo control ( $p < 0.001$ ).

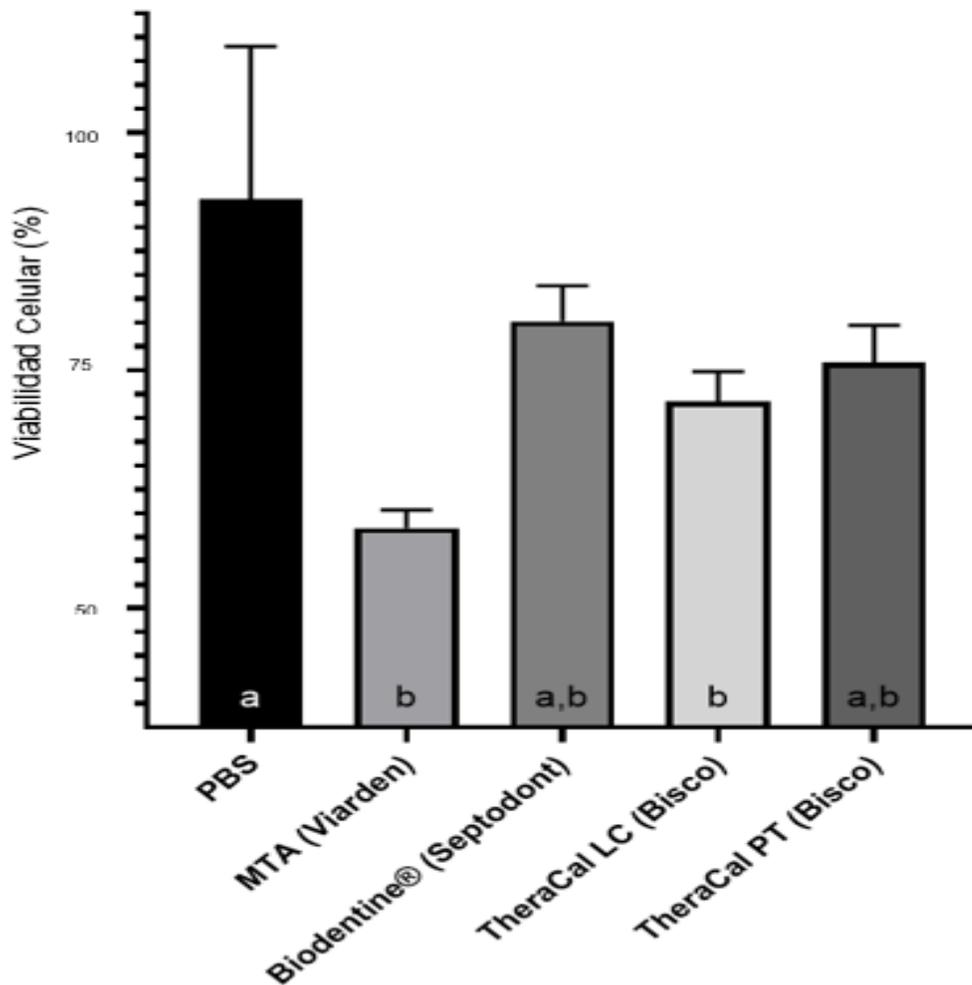


Figura11. Porcentaje de viabilidad celular en células madre de dientes deciduos exfoliados humanos (SHED) en contacto indirecto y  $\pm$ DE. Letras minúsculas diferentes indican la presencia de diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

## VIII DISCUSION

El objetivo de la odontología conservadora es desarrollar materiales mínimamente invasivos, capaces de producir la formación de dentina terciaria de reparación. Esto es posible debido a la formación de fosfato de calcio que coadyuba a la conservación de la vitalidad de la pulpa dental; en un material utilizado para recubrimientos pulpaes directos se deben potenciar esta cualidad, así como la disminución del efecto citotóxico que ejerza sobre la pulpa.(29,40) Uno de los materiales utilizados para este fin por décadas ha sido el MTA y recientemente se han agregado materiales a base de agua como Biodentine, y materiales de base resinosa como TheraCal LC y TheraCal PT, siendo este último de activación dual.

Para que estos materiales tengan un gran impacto clínico deben cubrir ciertos estándares como la resistencia compresiva, que aunque no es la única cualidad deseable en los materiales estudiados es muy importante ya que debe soportar la fuerza masticatoria en este estudio experimental se encontro que TheraCal PT (Bisco) obtuvo una mayor resistencia compresiva de 125.012 MPa, esto puede deberse a que es un silicato tricálcico modificado con resina que posee una matriz orgánica de Bis-GMA, y una matriz inorgánica compuesta por diferentes partículas de zirconio, silicio, estroncio, aluminio, etc.

Este material es de curado dual alcanzando su polimerización completa en cinco minutos, cubriendo zonas donde la luz de la lampara dental no llegarían, este material tiene una formula especial y patentada que permite tanto un curado dual como fotopolimerizable, también es un material más fácil de colocar ya que cuenta con una punta mezcladora que permite la distribución sencilla del mismo, (44) aunque en su uso clínico como recubrimiento pulpar no debe soportar cargas oclusales directas, la resistencia compresiva sigue siendo importante ya que deben proporcionar una buena adaptación y retención a las paredes dentinarias, que se encuentran bajo presión del complejo vasculonervioso, así como se colocan en una zona dónde disminuye severamente la adhesión.(41,49)

El hallazgo corrobora lo reportado por Falakaloğlu *et al.*, (2023), que al analizar diferentes biocerámicos encontró una mayor fuerza compresiva para TheraCal PT. (50)

Otro hallazgo encontrado fue con Biodentine® (Septodont) conocido como “sustituto de dentina” que según lo reportado por el fabricante, soporta fuerzas compresivas comparables a la dentina de 100 a 200 MPa, en este ensayo se obtuvo un valor de 55.5 MPa, similar a lo reportado por Molina *et al.* (2021) que evaluó la resistencia a la compresión de Biodentine, obteniendo un valor de 65.7 MPa.(22) Pérez *et al.*(2018) encontró que Biodentine obtuvo una mayor fuerza compresiva que MTA, similar a lo reportado en este estudio.(6)

Otra característica que deben cubrir los cementos de recubrimiento pulpar directo es la resistencia de unión a materiales resinosos. El material que más resistió a las fuerzas de cizallamiento (13.91MPa) fue TheraCal PT. Esto puede deberse a que contiene de un 10-30% de dimetacrilato de polietilenglicol que es un monómero de dimetacrilato alifático que se utiliza para mejorar las propiedades mecánicas y la resistencia química de polímeros.(51)En la práctica clínica, esta resistencia es muy importante, ya que el material es la base para un material de restauración final que la mayoría de las veces es resina y debe soportar las fuerzas oclusales de la masticación. Si la unión entre el biocerámico y la resina es fuerte, no se formarán espacios entre estos dos materiales una vez que la resina se contraiga durante el proceso de polimerización. (14,18,26,43), lo reportado en este estudio corrobora lo encontrado por Gasperi *et al.*,(2020) que evaluó Biodentine, TheraCal LC y MTA(Angelus) encontrando que TheraCal LC fue el material más resistente al cizallamiento por tener en su composición monómeros residuales.

Falakaloğlu *et al.*, (2023), comparó TheraCal LC, TheraCal PT y MTA encontrando que TheraCal PT es el material más resistente al cizallamiento. (50)

En este estudio se constató que no hay diferencias en la prueba de resistencia al cizallamiento de MTA y Biodentine, contrario a lo reportado por Tulumaci *et al.*,(2017) que encontró mayor resistencia al cizallamiento para MTA. (53)

Con respecto a la radiopacidad de los materiales utilizados como recubrimientos pulpares directos, esta propiedad depende del tipo y porcentaje de relleno que

contengan (45,54). Según la norma ISO 6876:2017, los materiales dentales para el sellado del conducto radicular deben tener una radiopacidad igual o mayor a 3 mm/Al,(34) se puede incluir a Biodentine ya que entre sus múltiples usos está el sellado radicular (12,25), según la ISO 9917:2003 para los cementos dentales a base de agua, su radiopacidad debe ser mayor o igual a 1 mm/Al por lo que el MTA queda incluido, y aunque TheraCal LC y TheraCal PT no entran estrictamente en estas normas, la radiopacidad es importante porque permite distinguirlos del esmalte, dentina y tejido óseo (45), incluso cuando se apliquen en capas muy delgadas. El fabricante de TheraCal LC sugiere el uso de capas de 1 mm. (23,44) El material que obtuvo los valores más altos de radiopacidad fue el MTA, obteniendo un valor de 5.8 mmAl, esto puede deberse a que contiene un 20% de óxido de bismuto (55), utilizado como opacificador con un peso molecular de 208.9804 g/mol y número atómico de 86. Existen reportes que indican que el MTA provoca manchas en los dientes, debido a la presencia de óxido de bismuto (7,56) en comparación con Biodentine cuyo opacificadores óxido de zirconio (5%) y un peso molecular de 91.22 g/mol y número atómico de 40.(24,26,42) lo que disminuye su radiopacidad, y puede hacer que disminuya paulatinamente, lo cual puede ser una desventaja en tratamientos con control radiográfico a largo tiempo, TheraCal LC contienen un 3% de óxido de bismuto y 3% de óxido de bario con un peso molecular de 153.33 g/mol y número atómico 56 (57). La dentina está compuesta principalmente por fósforo y calcio (58) con número atómico de 15 y 20 respectivamente, En este sentido, es importante mencionar que, a mayor número atómico y peso molecular, mayor es la radiopacidad de un material. (34,59,60)

En este estudio se encontró que Biodentine y TheraCal PT tuvieron valores por debajo de los 3 mm/Al, lo cual está fuera de la norma ISO 6876-2017, estos resultados concuerdan con Ochoa *et al.*, (2019) al comparar la radiopacidad de Biodentine, TheraCal LC con otros biocerámicos.(45) De acuerdo con lo encontrado por Sen *et al.*, Biodentine no cumple con los requisitos mínimos de radiopacidad. (34)

De los resultados obtenidos TheraCal LC tuvo el valor más alto de radiopacidad en comparación con Biodentine contrario a lo encontrado por Corral *et al.*,(2018), que

reporto una mayor radiopacidad para Biodentine en comparación con TheraCal LC. (59)

Los materiales cuya base es silicato tricálcico son hidrofílicos, soportan la humedad y pueden endurecer incluso en contacto con fluidos biológicos (sangre, fluido dentinal, y saliva), además de que promueven la formación de fosfatos de calcio precursores de la apatita. En este estudio experimental, la formación de fosfatos de calcio en Biodentine fue mayor que en el resto de los materiales; debido quizás a que está compuesto de silicato di y tricálcico en un 80.1%, en comparación con Theracal LC y TheraCal PT que contienen 45 y 60% de silicato cálcico respectivamente.(23,43,44) Además, TheraCal LC y TheraCal PT contienen componentes hidrófobos como son monómero de di metacrilato de uretano (UDMA), metacrilato de bisfenol glicidil (Bis-GMA), dimetacrilato de trietilenglicol (Tri-EDMA o TEGDMA), que disminuye la bioactividad de los materiales(32,41,49). Este estudio corrobora lo encontrado por Laurent et al (2022) que evaluaron la capacidad de Biodentine para formar dentina de reparación, y constataron que este material bioactivo induce la neo-formación de osteodentina por la probable secreción de TGF- $\beta$ 1 de las células pulpares(25), también Sáenz *et al.*, (2019) evaluó la biomineralización encontrando que TheraCal LC (Bisco) obtuvo una nula formación de hidroxiapatita.(41)

En este trabajo se evaluó además la viabilidad celular con cada uno de los materiales ensayados para determinar la actividad metabólica indicador de que la célula está viva(4,24) Los especímenes se compararon con un control amortiguador de fosfatos (PBS) encontrándose que Biodentine, TheraCal LC y TheraCal PT no tuvieron diferencias estadísticamente significativas en comparación con el control ( $p \geq 0.024$ ), considerandos como materiales bioinductivos, que no afectan la viabilidad de células madre pulpares, esto corrobora lo encontrado por Dahake *et al.*, (2020) que concluyó que Biodentine y MTA son bioinductivos en células madre de dientes deciduos exfoliados humanos (SHED) (61) Erfanparast *et al.*, (2018) evaluó el uso de TheraCal LC y MTA como recubrimientos directos pulpares en molares deciduos, encontrando a los 12 meses que tenían el mismo éxito clínico y radiográfico. (62) similar a los encontrado por Gurcan *et al.*, (2020) que comparó el éxito radiográfico

y clínico a los 24 meses, de TheraCal LC, MTA y Dycal en dientes deciduos y permanentes, y no encontrando diferencias estadísticamente significativas en el uso de estos materiales como recubrimiento pulpar indirecto.(63) Rodríguez *et al.*, (2021) probó un dispositivo de micro fluidos para evaluar el efecto de MTA, Biodentine y TheraCal LC sobre la viabilidad celular y proliferación de células madre extraídas de pulpa dental humana, concluyendo que TheraCal LC disminuyó la viabilidad celular y modificó la morfología celular.(3) Jeanneau *et al.*, (2017) encontró que TheraCal LC disminuyó la proliferación de fibroblastos pulpares, por lo que se considera citotóxico, en comparación con Biodentine que mostró una mayor mineralización.(64) Esen *et al.*, (2024) encontró que Biodentine y MTA no ejercen efecto genotóxico sobre células de linfocitos a concentraciones de 50 µg/ml. (65)

## **IX CONCLUSIONES**

Este estudio experimental in vitro mostro que TheraCal PT de la casa comercial Bisco, un material bioactivo cuya base es el silicato tricálcico, presento los valores más altos en cuanto a resistencia compresiva y resistencia de unión a materiales resinosos,por otro lado MTA de la marca Viarden es el material que obtuvo el valor más alto de radiopacidad y fue menos citotóxico en la prueba de viabilidad celular, Biodentine de la marca Septodont presentó formación de fosfato de calcio e hidroxiapatita en la prueba de bio mineralización in vitro. Las características evaluadas variaron entre los diferentes recubrimientos pulpares directos analizados, debido a la formulación de cada uno de ellos, los materiales de base polimérica tienen una mayor resistencia de unión a materiales resinosos, una mayor fuerza compresiva, y una radiopacidad aceptable por la ISO 6876:2017, sin embargo, estos materiales no permiten una amplia formación de hidroxiapatita en su superficie y tienen tasas bajas de viabilidad celular. Este estudio busca ampliar el conocimiento sobre las diferentes características mecánicas, químicas y biológicas de estos materiales y servirá de base para futuros estudios clínicos sobre recubrimientos pulpares directos.

## **X RECOMENDACIONES**

La limitación del estudio se basa en la imposibilidad de exponer las muestras a las mismas condiciones a las cuales se enfrentan los materiales en la cavidad oral, lo que ocasiona que los resultados obtenidos sea un aproximado, por lo que se recomienda realizar experimentos clínicos.

Hay pocos trabajos experimentales con MTA de la marca Viarden, por lo que se sugiere experimentar más con este material, ya que es una marca económica y con buenas propiedades.

Se sugiere realizar más estudios sobre viabilidad celular y citotoxicidad, además sobre microorganismos presentes en cavidad oral como *streptococcus salivarius*, *streptococcus mitis*, *estreptococos del grupo milleri*, *streptococcus mucilaginosus*, *streptococcus mutans*, *enterococcus faecalis*.

## XI REFERENCIAS

1. Machiulskiene V, Campus G, Carvalho JC, Dige I, Rud Ekstrand K, Jablonski-Momeni A, et al. Terminology of Dental Caries and Dental Caries Management: Consensus Report of a Workshop Organized by ORCA and Cariology Research Group of IADR. *Caries Res.* 2020;54:7–14.
2. Stejskalová A, Kiani MT, Almquist BD. Programmable biomaterials for dynamic and responsive drug delivery. *Exp Biol Med.* 2016 May 13;241(10):1127–37.
3. Rodrigues NS, França CM, Tahayeri A, Ren Z, Saboia VPA, Smith AJ, et al. Biomaterial and Biofilm Interactions with the Pulp-Dentin Complex-on-a-Chip. *J Dent Res.* 2021 Sep 26;100(10):1136–43.
4. Kunert M, Lukomska-Szymanska M. Bio-Inductive Materials in Direct and Indirect Pulp Capping-A Review Article. *Materials (Basel).* 2020 Mar 1;13(5).
5. Zafar K, Jamal S, Ghafoor R. Bio-active cements-Mineral Trioxide Aggregate based calcium silicate materials: a narrative review. *J Pak Med Assoc.* 2020;(0):1.
6. Chang KC, Chang CC, Huang YC, Chen MH, Lin FH, Lin CP. Effect of Tricalcium Aluminate on the Physicochemical Properties, Bioactivity, and Biocompatibility of Partially Stabilized Cements. *PLoS One.* 2014 Sep 23;9(9):e106754.
7. Yoldaş SE, Bani M, Atabek D, Bodur H. Comparison of the Potential Discoloration Effect of Bioaggregate, Biodentine, and White Mineral Trioxide Aggregate on Bovine Teeth: In Vitro Research. *J Endod.* 2016 Dec;42(12):1815–8.
8. Álvarez-Vásquez JL, Castañeda-Alvarado CP. Dental Pulp Fibroblast: A Star Cell. *J Endod.* 2022 Aug;48(8):1005–19.
9. Tran XV, Salehi H, Truong MT, Sandra M, Sadoine J, Jacquot B, et al. Reparative mineralized tissue characterization after direct pulp capping with calcium-silicate-based cements. *Materials.* 2019;12(13).
10. Cushley S, Duncan HF, Lappin MJ, Chua P, Elamin AD, Clarke M, et al. Efficacy of direct pulp capping for management of cariously exposed pulps in permanent teeth: a systematic review and meta-analysis. *Int Endod J.* 2021 Apr 1;54(4):556–71.
11. Widbiller M, Weiler R, Knüttel H, Galler KM, Buchalla W, Scholz KJ. Biology of selective caries removal: a systematic scoping review protocol. *BMJ Open.* 2022;12:61119.
12. Youssef AR, Emara R, Taher MM, Al-Allaf FA, Almalki M, Almasri MA, et al. Effects of mineral trioxide aggregate, calcium hydroxide, biodentine and Emdogain on

osteogenesis, Odontogenesis, angiogenesis and cell viability of dental pulp stem cells. *BMC Oral Health*. 2019 Jul 2;19(1).

13. Bjørndal L, Simon S, Tomson PL, Duncan HF. Management of deep caries and the exposed pulp. *Int Endod J*. 2019;52:949–73.
14. Manaspon C, Jongwannasiri C, Chumprasert S, Sa-Ard-lam N, Mahanonda R, Pavasant P, et al. Human dental pulp stem cell responses to different dental pulp capping materials. *BMC Oral Health*. 2021 Dec 26;21(1):209.
15. Qureshi A, Safdar NF, Qureshi H, Alfawaz YF, Ahdal K Al, Shabib S, et al. Dietary Factors Influencing the Caries Status of Adults in Karachi, Pakistan: Initial Findings. *Int J Environ Res Public Health*. 2022 Jun 1;19(12).
16. Conrads G, About I. Pathophysiology of Dental Caries. *Monogr Oral Sci*. 2018;27:1–10.
17. Buldur B. Pathways between parental and individual determinants of dental caries and dental visit behaviours among children: Validation of a new conceptual model. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2020 Aug 1;48(4):280–7.
18. Bourguignon C, Cohenca N, Lauridsen E, Flores MT, O'Connell AC, Day PF, et al. International Association of Dental Traumatology guidelines for the management of traumatic dental injuries: 1. Fractures and luxations. *Dent Traumatol*. 2020 Aug 1;36(4):314–30.
19. Lopes LB, Machado V, Mascarenhas P, Mendes JJ, Botelho J. The prevalence of molar-incisor hypomineralization: a systematic review and meta-analysis. *Scientific Reports* |. 123AD;11:22405.
20. Bandeira Lopes L, Machado V, Botelho J, Haubek D. Molar-incisor hypomineralization: an umbrella review. *Acta Odontol Scand*. 2021;79(5):359–69.
21. Cristina A, Janini P, Bombarda GF, Pelepenko E, Marciano MA. antibiotics Antimicrobial Activity of Calcium Silicate-Based Dental Materials: A Literature Review. 2021;10(865).
22. Farrugia C, Baca P, Camilleri J, Arias Moliz & MT. Antimicrobial activity of ProRoot MTA in contact with blood. *Nature Publishing Group*. 2017;(41359).
23. Antonio Hungaro Duarte Marina Angélica Marciano Rodrigo Ricci Vivan Mario Tanomaru Filhq Juliane Maria Guerreiro Tanumaru Josette Camilleri M. CritiCal review Endodontic Therapy Tricalcium silicate-based cements: properties and modifications. 2018;32(1).

24. Leme KSV, Salvadori DMF. In vitro toxicogenomic activity of an MTA/salicylate-based endodontic sealer. *Toxicol Rep.* 2022;9:1076–81.
25. Rajasekharan S, Martens LC, Cauwels RGEC, Anthonappa RP. Biodentine™ material characteristics and clinical applications: a 3 year literature review and update. *Eur Arch Paediatr Dent.* 2018 Feb 1;19(1).
26. Bakhtiar H, Nekoofar MH, Aminishakib P, Abedi F, Naghi Moosavi F, Esnaashari E, et al. Human Pulp Responses to Partial Pulpotomy Treatment with TheraCal as Compared with Biodentine and ProRoot MTA: A Clinical Trial. *J Endod.* 2017 Nov 1;43(11):1786–91.
27. Arandi NZ, Rabi T. TheraCal LC: From Biochemical and Bioactive Properties to Clinical Applications. *Int J Dent.* 2018;2018:198–207.
28. Elbanna A, Atta D, Sherief D. In vitro bioactivity of newly introduced dual-cured resin-modified calcium silicate cement. *Dent Res J (Isfahan).* 2022 Jan 1;19(1):1.
29. Bakr MM, Shamel M, Raafat SN, Love RM, Al-Ankily MM. Effect of pulp capping materials on odontogenic differentiation of human dental pulp stem cells: An in vitro study. *Clin Exp Dent Res.* 2024 Feb 6;10(1).
30. Sobhnamayan F, Adl A, Shojaee NS, Sedigh-Shams M, Zarghami E. Compressive Strength of Mineral Trioxide Aggregate and Calcium-enriched Mixture Cement Mixed with Propylene Glycol. *IEJ Iranian Endodontic Journal.* 2017;12(4):493–6.
31. Guerreiro-Tanomaru JM, Vázquez-García FA, Bosso-Martelo R, Bernardi MIB, Faria G, Tanomaru Filho M. Effect of addition of nano-hydroxyapatite on physico-chemical and antibiofilm properties of calcium silicate cements. *J Appl Oral Sci.* 2016 May 1;24(3):204–10.
32. Chiang TY, Ding SJ. Comparative Physicochemical and Biocompatible Properties of Radiopaque Dicalcium Silicate Cement and Mineral Trioxide Aggregate. *J Endod.* 2010 Oct;36(10):1683–7.
33. Somani R, Jaidka S, Singh DJ, Sibal GK. Comparative Evaluation of Shear Bond Strength of Various Glass Ionomer Cements to Dentin of Primary Teeth: An in vitro Study. *Int J Clin Pediatr Dent.* 2016;9(3):192–6.
34. Sen HG, Helvacioğlu-Yigit D, Yılmaz A. Radiopacity evaluation of calcium silicate cements. *BMC Oral Health.* 2023 Jul 15;23(1):491.

35. Kachoei M, Divband B, Rahbar M, Esmaeilzadeh M, Ghanizadeh M, Alam M. A Novel Developed Bioactive Composite Resin Containing Silver/ Zinc Oxide (Ag/ZnO) Nanoparticles as an Antimicrobial Material against Streptococcus mutans, Lactobacillus, and Candida albicans. 1391. 2021;13(5987):125–80.
36. Kang S. Mineralization-inducing potentials of calcium silicate-based pulp capping materials in human dental pulp cells. Yeungnam Univ J Med. 2020 Jul 31;37(3):217–25.
37. Chang SW, Lee SY, Ann HJ, Kum KY, Kim EC. Effects of calcium silicate endodontic cements on biocompatibility and mineralization-inducing potentials in human dental pulp cells. J Endod. 2014;40(8):1194–200.
38. Djošić M, Janković AJ, Mišković V, Stanković MS, Dziedzic A. materials Electrophoretic Deposition of Biocompatible and Bioactive Hydroxyapatite-Based Coatings on Titanium. 16985. 2021 Jun 25;1689–98.
39. Manaspon C, Jongwannasiri C, Chumprasert S, Sa-Ard-lam N, Mahanonda R, Pavasant P, et al. Human dental pulp stem cell responses to different dental pulp capping materials. BMC Oral Health. 2021 Dec 26;21(1):209.
40. Gungor A, Durmus E, Kurt B, Kocuyigit A, Dalkilic E, Arisu H. Effects of Bioactive Pulp-capping Materials on Cell Viability, Differentiation, and Mineralization Behaviors of Human Dental Pulp Stem Cells In Vitro. Oper Dent. 2023 May 1;48(3):317–28.
41. Elbanna A, Atta D, Sherief D. In vitro bioactivity of newly introduced dual-cured resin-modified calcium silicate cement. Dent Res J (Isfahan). 2022;19(1):1.
42. Gandolfi MG, Siboni F, Prati C. Chemical-physical properties of TheraCal, a novel light-curable MTA-like material for pulp capping. Int Endod J. 2018 Jun;45(6):571–9.
43. Sanz JL, Soler-Doria A, López-García S, García-Bernal D, Rodríguez-Lozano FJ, Lozano A, et al. Comparative Biological Properties and Mineralization Potential of 3 Endodontic Materials for Vital Pulp Therapy: Theracal PT, Theracal LC, and Biodentine on Human Dental Pulp Stem Cells. J Endod. 2021 Dec 1;47(12):1896–906.
44. Sanz JL, Soler-Doria A, López-García S, García-Bernal D, Rodríguez-Lozano FJ, Lozano A, et al. Comparative Biological Properties and Mineralization Potential of 3 Endodontic Materials for Vital Pulp Therapy: Theracal PT, Theracal LC, and Biodentine on Human Dental Pulp Stem Cells. J Endod. 2021 Dec;47(12):1896–906.
45. Ochoa-Rodríguez VM, Tanomaru-Filho M, Rodrigues EM, Guerreiro-Tanomaru JM, Spin-Neto R, Faria G. Addition of zirconium oxide to Biodentine increases

radiopacity and does not alter its physicochemical and biological properties. *J Appl Oral Sci.* 2019;27.

46. Wu BC, Wei CK, Hsueh NS, Ding SJ. Comparative cell attachment, cytotoxicity and antibacterial activity of radiopaque dicalcium silicate cement and white-coloured mineral trioxide aggregate. *Int Endod J.* 2015 Mar 1;48(3):268–76.
47. Pedano MS, Li X, Yoshihara K, Van Landuyt K, Van Meerbeek B. Cytotoxicity and Bioactivity of Dental Pulp-Capping Agents towards Human Tooth-Pulp Cells: A Systematic Review of In-Vitro Studies and Meta-Analysis of Randomized and Controlled Clinical Trials. *Materials (Basel).* 2020 Jun 1;13(12).
48. Collado-González M, García-Bernal D, Oñate-Sánchez RE, Ortolani-Seltenerich PS, Álvarez-Muro T, Lozano A, et al. Cytotoxicity and bioactivity of various pulpotomy materials on stem cells from human exfoliated primary teeth. *Int Endod J.* 2017 Dec 1;50 Suppl 2(Special Issue 2):e19–30.
49. Gasperi TL, Silveira J de AC da, Schmidt TF, Teixeira C da S, Garcia L da FR, Bortoluzzi EA. Physical-Mechanical Properties of a Resin-Modified Calcium Silicate Material for Pulp Capping. *Braz Dent J.* 2020 Jun;31(3):252–6.
50. Falakaloğlu S, Yeniçeri Özata M, Plotino G. Micro-shear bond strength of different calcium silicate materials to bulk-fill composite. *PeerJ.* 2023 Mar 29;11:e15183.
51. Pantaleón López Rubén. Nanocomposites de sílice y polimetilmetacrilato. caracterización por espectroscopía infrarroja por transformada de fourier. [Madrid]: Universidad Carlos III de Madrid Escuela Politécnica Superior; 2009.
52. Duarte MAH, Marciano MA, Vivan RR, Tanomaru Filho M, Tanomaru JMG, Camilleri J. Tricalcium silicate-based cements: properties and modifications. *Braz Oral Res.* 2018 Oct 18;32(suppl 1).
53. Tulumbaci F, Almaz M, Arıkan V, Mutluay M. Shear bond strength of different restorative materials to mineral trioxide aggregate and Biodentine. *Journal of Conservative Dentistry.* 2017;20(5):292.
54. Sen HG, Helvacıoğlu-Yigit D, Yılmaz A. Radiopacity evaluation of calcium silicate cements. *BMC Oral Health.* 2023 Jul 15;23(1):491.
55. Bortoluzzi EA, Broon NJ, Bramante CM, Garcia RB, de Moraes IG, Bernardineli N. Sealing Ability of MTA and Radiopaque Portland Cement With or Without Calcium Chloride for Root-End Filling. *J Endod.* 2006 Sep;32(9):897–900.

56. Kang SH, Shin YS, Lee HS, Kim SO, Shin Y, Jung IY, et al. Color Changes of Teeth after Treatment with Various Mineral Trioxide Aggregate–based Materials: An Ex Vivo Study. *J Endod.* 2015 May;41(5):737–41.
57. Granados-Laura S, Alcalde-Picho C, Guzmán-Mamani J, Melendez D, Torres-Portuguez C, Velásquez-Huamán Z. Cementos a base de silicato de calcio: factor clave en el éxito del recubrimiento pulpar directo. Revisión de la literatura. *Revista Estomatológica Herediana.* 2022 Apr 22;32(1):52–60.
58. Banihani A, Santamaría · R M, Hu · S, Maden · M, Albadri · S. *European Archives of Paediatric Dentistry* Minimal intervention dentistry for managing carious lesions into dentine in primary teeth: an umbrella review. 1:3.
59. Corral C, Negrete P, Estay J, Osorio S, Covarrubias C, Junior OB de, et al. Radiopacity and Chemical Assessment of New Commercial Calcium Silicate-Based Cements. *International journal of odontostomatology.* 2018 Sep;12(3):262–8.
60. Sahin N, Saygili S, Akcay M. Clinical, radiographic, and histological evaluation of three different pulp-capping materials in indirect pulp treatment of primary teeth: a randomized clinical trial. *Clin Oral Investig [Internet].* 2021 Jun 1 [cited 2022 Sep 7];25(6):3945–55. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33404764/>
61. Dahake PT, Panpaliya NP, Kale YJ, Dadpe M V., Kendre SB, Bogar C. Response of stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED) to three bioinductive materials – An in vitro experimental study. *Saudi Dent J.* 2020 Jan;32(1):43–51.
62. Erfanparast L, Iranparvar P, Vafaei A. Direct pulp capping in primary molars using a resin-modified Portland cement-based material (TheraCal) compared to MTA with 12-month follow-up: a randomised clinical trial. *European Archives of Paediatric Dentistry.* 2018 Jun 16;19(3):197–203.
63. Gurcan Andrea, Seymen Fernando. Clinical and radiographic evaluation of indirect pulp capping with three different materials: a 2-year follow-up study. *Eur J Paediatr Dent.* 2020;20.
64. Jeanneau C, Laurent P, Rombouts C, Giraud T, About I. Light-cured Tricalcium Silicate Toxicity to the Dental Pulp. *J Endod.* 2017 Dec;43(12):2074–80.
65. Esen M, Guven Y, Seyhan MF, Ersev H, Tuna-Ince EB. Evaluation of the genotoxicity, cytotoxicity, and bioactivity of calcium silicate-based cements. *BMC Oral Health.* 2024 Jan 20;24(1):119.

## XII ANEXOS

### 12.1 Formato de aceptación por el comité de Ética e Investigación de ICsA.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO  
Instituto de Ciencias de la Salud  
*School of Medical Sciences*  
Coordinación de Investigación  
*Area of Research*

San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo a 07 de marzo de 2023  
Oficio Comitée.icsa ICsA160/2023  
Asunto: DICTAMEN DEL COMITÉ DE ÉTICA E INVESTIGACIÓN

**Milanés Baños Norma Angélica**  
Investigador Principal  
norma\_milanez@uaeh.edu.mx

PRESENTE

**Título del Proyecto: Caracterización mecánica, química y biológica de materiales utilizados como recubrimientos pulpares en Odontología.**

Le informamos que su proyecto de referencia ha sido evaluado por el Comité de Ética e Investigación del Instituto de Ciencias de la Salud y las opiniones acerca de los documentos presentados se encuentran a continuación:

Decisión
Aprobado

Este protocolo tiene vigencia del 07 de marzo del 2023 al 07 de marzo del 2024.

En caso de requerir una ampliación, le rogamos tenga en cuenta que deberá enviar al Comité un reporte de progreso de avance de su proyecto al menos 60 días antes de la fecha de término de su vigencia.

Le rogamos atender las indicaciones realizadas por el revisor, y enviar nuevamente una versión corregida de su protocolo para una nueva evaluación.

Atentamente

  
Dra. Itzia María Cazares Palacios  
Presidenta del Comité



Para la validación de este documento, informe el siguiente código en la sección Validador de documentos del sitio web del Comité de Ética e Investigación del Instituto de Ciencias de la Salud: jN-eJYQIT

<https://sites.google.com/view/comiteei-icsa/validador-de-documentos>



Cirujía ex-Hacienda La Concepción s/n  
Carretera Pachuca Actopan, San Agustín  
Tlaxiaca, Hidalgo, México, C.P. 42160  
Teléfono: 52 (771) 71 720 00 Ext. 4306  
investigacion\_icsa@uaeh.edu.mx

[www.uaeh.edu.mx](http://www.uaeh.edu.mx)

## 12.2 Constancia de participación congreso UNAM



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

La Escuela Nacional de Estudios Superiores, Unidad León  
a través de la División de Educación Continua e Innovación

Otorga la presente

## CONSTANCIA

a

Norma Angélica Milanes Baños, Cuevas Suarez Carlos Enrique, Zamarripa  
Calderón Juan Eliezer, Rivera Gonzaga José Alejandro, Monjaraz Ávila  
Ana Josefina, Grazioli Guillermo

Por su participación en el  
*Concurso de Presentaciones Orales*  
con el trabajo

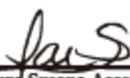
*Evaluación De Propiedades Selectas De Materiales Utilizados Como Recubrimientos Pulpares En  
Odontología*

llevado a cabo el  
23 de octubre de 2023  
en el marco del

**2º Congreso Internacional de  
BioNano Materiales**

“Por mi Raza Hablará el Espíritu”

León, Guanajuato, a 27 de octubre de 2023

  
Dra. Laura Susana Acosta Torres  
Directora  
ENES Unidad León, UNAM



  
Esp. Roberto Ruiz Díaz  
Jefe de División  
Educación Continua e Innovación

ENESL-UNAM-DECI-20CEN23-071



Escuela  
Nacional de  
Estudios  
Superiores

Escuela Nacional de Estudios Superiores, Unidad León  
División de Educación Continua e Innovación

LIBRO 3

FOJA 55

FECHA 27-octubre-2023



**DECI**  
División de Educación Continua e Innovación

  
Esp. Roberto Ruiz Díaz  
Jefe de División  
Educación Continua e Innovación

### 12.3 Constancia de asistencia a congreso de Nanomateriales



## UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

La Escuela Nacional de Estudios Superiores, Unidad León  
a través de la División de Educación Continua e Innovación

Otorga la presente

# CONSTANCIA

a

**Norma Angelica Milanes Baños**

por su asistencia al  
**2º Congreso Internacional en  
Bio Nano Materiales**  
llevado a cabo del  
23 al 25 de octubre de 2023  
con valor curricular de **10 horas**

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”  
León, Guanajuato, a 13 de noviembre de 2023

Dra. Laura Susana Acosta Torres  
Directora  
ENES Unidad León, UNAM



Esp. Roberto Ruiz Díaz  
Jefe de División  
Educación Continua e Innovación

ENESL-UNAM-DECI-2023-125



Escuela Nacional de Estudios Superiores, Unidad León  
División de Educación Continua e Innovación

LIBRO 3  
FOJA 55  
FECHA 13-noviembre-2023  
VALOR CURRICULAR 10 horas

Esp. Roberto Ruiz Díaz  
Jefe de División  
Educación Continua e Innovación

## 12.4 Estancia de investigación en Puebla



Constancia No. FESIEP/CIFE/105/2023

Dr. Manuel Sánchez Gutiérrez  
Coordinador del Programa de Maestría en Ciencias Biomédica  
Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo  
PRESENTE

Sirva este medio para enviarle un cordial saludo, asimismo, el que suscribe MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez Secretario de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; **HAGO CONSTAR** que, la C. Norma Angélica Milanes, alumna perteneciente al Programa de la Maestría en Ciencias Biomédica de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, realizó una Estancia de Investigación durante el periodo correspondiente a partir del día lunes 05 al día viernes 30 de junio del presente año, en el Laboratorio de Materiales y Biomateriales Dentales de la Facultad de Estomatología de nuestra Benemérita Institución. En el cual, realizó su trabajo de Investigación titulado:

“Caracterización física, química y mecánica de materiales utilizados como recubrimientos pulpares en odontología”.

De igual forma, se complementará con las pruebas de resistencia a la compresión y bio-mineralización in vitro.

Esperando que mencionada Estancia haya sido favorable y de fortalecimiento entre nuestras Instituciones.

Para los fines legales que al interesado convenga, y sin otro particular, reitero a Usted mi más atenta y distinguida consideración.

Atentamente  
“Pensar bien, para vivir mejor”  
H. Puebla a 7, 10 de julio de 2023

DC. Abigail Flores Ledesma  
Docente Investigador Titular “A”  
Coordinador Laboratorio de Materiales y Biomateriales Dentales  
Facultad de Estomatología

Va. Ba.

MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez  
Secretario de Investigación y Estudios de Posgrado  
Facultad de Estomatología

Ccp. Archivo  
MTRD.FJMA/DI/FADV/105/2023

Facultad de Estomatología | 31 Poniente 1304, Col. Volcanes,  
Puebla, Pue. C. P. 72410  
01 (222) 229 55 00 Ext. 6400

12.5 Estancia de investigación en León Guanajuato.



SECRETARÍA ACADÉMICA  
OFICIO ENES-León/SAC/317/2023

Asunto: carta de aceptación para  
estancia de investigación

DR. CARLOS ENRIQUE CUEVAS SUÁREZ  
DIRECTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Presente

Vo.Bo.

M. en C. José de Jesús Navarrete Hernández  
Jefe del área académica de Odontología

En respuesta a su oficio AAO/568/2023 y por indicación de la Dra. Laura Susana Acosta Torres, directora de esta Escuela Nacional de Estudios Superiores, Unidad León, me permito informar que se autoriza a Norma Angélica Milanés Baños, realizar una estancia de investigación, durante el periodo del 16 de octubre al 30 de noviembre de 2023, en el Laboratorio de nanoestructuras y Biomateriales, a cargo del Dr. Rene García Contreras.

Cabe mencionar, que dicha estancia es estrictamente académica, en consecuencia, no genera algún derecho o relación de tipo laboral con esta escuela.

Sin otro particular, hago propicia la ocasión para enviarle un cordial saludo.

Atentamente

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

León, Guanajuato a 10 de octubre de 2023

SECRETARIO ACADÉMICO

A handwritten signature in black ink, appearing to read "S. Andrade". The signature is stylized and written over a horizontal line.

MTRO. SALVADOR ANDRADE ORTIZ

C.c.p. Dra. Laura Susana Acosta Torres, Directora de la ENES León UNAM. Presente.  
Dr. Rene García Contreras, Responsable de la Licenciatura en Odontología y Responsable del Laboratorio de Investigación Interdisciplinaria, Área de Nanoestructuras y Biomateriales de la ENES León UNAM. Presente.

SCA

## 12.6 Simulated body fluid (fluido corporal simulado)

Preparación según la ISO 23317:2014

Materiales y cantidades utilizadas

8.035 gr Cloruro de sodio (NaCl)

0.355 gr Hidrogenocarbonato de sodio (NaHCO<sub>3</sub>)

0.225 gr Cloruro de potasio (KCl)

.0231 gr Hidrogenofosfato dipotásico trihidrato (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.3H<sub>2</sub>O)

0.311 gr Cloruro de magnesio hexahidrato (MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O)

0.292 gr Cloruro de calcio (CaCl<sub>2</sub>)

0.072 gr Sulfato de sodio (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)

11gr Tris-hidroximetilaminometano (TRIS): ((HOCH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CNH<sub>2</sub>)

39 ml Solución de ácido clorhídrico, c(HCl) = 1 mol/l.

Soluciones estándar de pH, (pH 4, 7 y 9)

1.- En un vaso de precipitados de 1 litro de plástico, a baño maría, se colocaron 700 ml de agua destilada, con una barra agitadora, se cubrió con film transparente. Se calienta el agua en el vaso a 36.5 °C ± 1,5 °C.

2.- Se disolvieron los reactivos en la solución en el siguiente orden: NaCl, NaHCO<sub>3</sub>, KCl, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.3H<sub>2</sub>O, HCl, MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, CaCl<sub>2</sub> (disolver granulo por granulo), Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Disolver un reactivo a la vez.

3.- Medir el pH el cual debe ser 2,0 ± 1,0, la temperatura debe ser 36,5 ± 0,5 °C, agregar poco a poco (HOCH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CNH<sub>2</sub>, el aumento de pH arriba de 7.45 provoca la precipitación de apatita.

4.- Establecer la temperatura de la solución a (36,5 ± 1,5) °C. Si la cantidad de solución es inferior a 900 ml, añadir agua destilada hasta 0,9 l en total.

5.- Ajustar el pH de la solución añadiendo el ácido clorhídrico solución poco a poco a un pH de  $7,42 \pm 0,01$  a  $(36,5 \pm 0,2) ^\circ\text{C}$  y finalmente ajustarlo a 7,40 exactamente a  $36,5 ^\circ\text{C}$ .

6.- Vierta la solución ajustada con pH del vaso de precipitados en un volumétrico de 1 litro. Arreglar el matraz. Enjuague la superficie del vaso con agua destilada varias veces y agregar los lavados al matraz, fijando la barra agitadora con un imán para evitar que caiga dentro del matraz aforado.

7.- Tapar el matraz y cerrarlo con un film plástico, mantener la solución en el agua para enfriarla a  $20 ^\circ\text{C}$ .

8.- A las 24 horas revisar la formación de apatita de los vidrios estándar en el SBF preparado.

El fluido corporal simulado preparado debe conservarse en una botella de plástico con una tapa bien cerrada y mantenerse a  $(5 \text{ a } 10) ^\circ\text{C}$  en un refrigerador. Se debe utilizar dentro de los 30 días posteriores a su preparación.

## 12.7 Preparación PBS 500 ml

1.- Se pesaron las siguientes sales en una balanza analítica

4 g NaCl Cloruro de sodio

0.1g KCl Cloruro de potasio

0.85g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> Fosfato de sodio

.00815g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> Fosfato de potasio

500 ml Agua destilada dH<sub>2</sub>O

2. Anadir las sales a un vaso de precipitado adecuado para el volumen de la solución por preparar.

3. Añadir el 80% del volumen del agua destilada requerida al vaso de precipitado y mezcle encima del agitador magnético hasta diluir las sales.

4. Aforar la solución hasta el volumen final requerido.

5. Ajustar el pH a 7.3 o 7.4 con Ácido Clorhídrico (HCl) o con Hidróxido de Sodio (NaOH).

a. Se preparan 100 ml de HCl (1 M) en 91 ml de agua destilada en un vaso de precipitados de 250 ml se agregan 8.62 ml concentrado de HCL. ¡No agregar el agua al ácido! Mezcle en un agitador magnético durante 5 min y afore a 100 ml.

b. Se preparan 100 ml de NaOH (10 M) agregando en un vaso de precipitados de 250 ml, 40 g a 40 ml de agua destilada. Mezcle con un agitador magnético hasta que el NaOH se haya disuelto por completo. Afore a 100 ml.

6. Afore la solución con agua destilada al volumen final requerido.

7. Cubra el recipiente con papel aluminio y coloque cinta testigo.

8. Esterilice en autoclave durante 30 min.

9. Mantenga el PBS estéril en refrigeración a 4 °C.

### 12.8 Preparación de MTT (Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio)

- 1.- Se pesa en la báscula analítica .0008 gramos de MTT en polvo de Sigma M5655.
- 2.- Se disuelve en 40 ml de Buffer fosfato salino (PBS), mediante agitación en agitador de placa de cerámica de 10 x 10 cm, a 90 revoluciones por minuto durante 5 minutos.
- 3.- Se protege de la luz.